

Institut für Pflanzenkrankheiten  
der  
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

---

**Charakterisierung des Bakterienspektrums der Kartoffel und dessen Potenzial  
zur biologischen Bekämpfung des Wurzelgallennematoden  
*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood**

**Inaugural-Dissertation**

zur  
Erlangung des Grades  
Doktor der Agrarwissenschaften  
(Dr. agr.)  
der  
Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät  
der  
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität  
zu Bonn

vorgelegt am 15.12.2003

von  
**Annekathrin Faupel**  
aus  
Lüdenscheid

Referent: Prof. Dr. R. A. Sikora

Korreferent: Prof. Dr. H. Goldbach

Tag der mündlichen Prüfung: 13.02.2004

## Kurzfassung

Annekathrin Faupel

### Charakterisierung des Bakterienspektrums der Kartoffel und dessen Potenzial zur biologischen Bekämpfung des Wurzelgallennematoden *Meloidogyne incognita* (Kofoed & White) Chitwood

Pflanzenassoziierte Bakterien können zum Pflanzenwachstum und zur Pflanzengesundheit beitragen, jedoch ist bisher wenig über ihre Abundanz, Diversität und ihr antagonistisches Potenzial zur biologischen Kontrolle bodenbürtiger Schaderreger bekannt. Von Kartoffelpflanzen der Sorte 'CILENA' wurden insgesamt 2716 Bakterienisolate aus den Mikrohabitaten Rhizosphäre/Endorhiza und Phyllosphäre/Endosphäre isoliert und mittels FAME-Gaschromatographie identifiziert. Diese Daten wurden zur Berechnung des Artenreichtums (R1), der Diversität (N1, N2) und der Evenness (E5) verwendet, um die Populationsspektren in Bezug auf Habitat und Vegetationsstadium vergleichen zu können. Es zeigten sich Unterschiede in der Zusammensetzung der Bakterienpopulationen und der Diversitäten in den einzelnen Habitaten und deutliche Veränderungen im Laufe der Vegetationsperiode. Die Gattungen *Bacillus* und *Pseudomonas* zeigten generell die höchste Dominanz. In der Rhizosphäre waren daneben noch die Gattungen *Arthrobacter*, *Sphingobacterium* und *Stenotrophomonas*, in der Endorhiza *Agrobacterium* und *Stenotrophomonas* und in der Phyllosphäre die Gattung *Arthrobacter* dominant vertreten. In der Endosphäre waren neben *Bacillus* und *Pseudomonas* überwiegend die Gattungen *Agrobacterium*, *Curtobacterium* und *Micrococcus* zu finden.

Alle Isolate wurden einem Dualkulturtest auf antagonistische Aktivität gegen die bodenbürtigen Schaderreger *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani* unterzogen. Dabei zeigten 14-15 % der Isolate vor allem zum Stadium der Blüte in der Rhizosphäre und Endorhiza antagonistische Aktivität. Bis zu 88 % dieser Bakterien waren den dominanten Gattungen *Bacillus* und *Pseudomonas* zugehörig.

Neben der antagonistischen Aktivität gegenüber den bodenbürtigen Pilzen wurden 156 Bakterienisolate zusätzlich auf ihr antagonistisches Potenzial gegen den Wurzelgallennematoden *M. incognita* an Kartoffelpflanzen getestet. Siebenundvierzig Isolate zeigten dabei eine Reduktion der Anzahl der Gallen und Eiermassen von über 25 %. Die Bakterienisolate stammten überwiegend aus den Gattungen *Pseudomonas* (47 %), *Streptomyces* (15 %) und *Paenibacillus* (12 %). Die besten Isolate mit Wirkung gegen mehrere Schaderreger waren *Streptomyces violaceusniger* RR76 und *Pseudomonas putida* 3R2-12 aus der Rhizosphäre. Sie führten zu einer Reduktion der Gallen von *M. incognita* von mehr als 50 % und einer starken Hemmung des Wachstums von *V. dahliae* und *R. solani*. Diese Isolate könnten potenzielle Kandidaten für die Entwicklung biologischer Präparate zur Pathogenkontrolle darstellen.

## ABSTRACT

Annekathrin Faupel

### **Characterization of potato-associated bacteria and their potential for the biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood**

Plant associated bacteria are able to improve plant growth and health but little is known about their diversity, abundance and antagonistic potential for the biological control of soilborne pathogens. Samples of roots and leaves of potato plants var. 'CILENA' were taken at three different growth stages (establishment, flowering, maturity) and 2716 bacteria were isolated from the microhabitats rhizosphere/endorhiza and phyllosphere/endosphere. The isolates were characterized using FAME gas chromatography. Data obtained were used for calculation of richness (R1) and diversity (N1, N2) and evenness (E5) to compare population spectra between habitats and growth stages of the potato plant. Composition and diversity of bacterial populations changed significantly over time in all habitats. In general *Bacillus* and *Pseudomonas* were the most dominant genera. Further dominant genera were *Stenotrophomonas* in the rhizosphere and endorhiza, *Arthrobacter* in the phyllosphere and *Agrobacterium*, *Curtobacterium* and *Micrococcus* in the endosphere.

Bacterial isolates were then tested for their antagonistic potential against the soilborne pathogens *Verticillium dahliae* and *Rhizoctonia solani* *in vitro*. The highest antagonistic activity with 14-15 % of all isolates occurred in the rhizosphere and endorhiza at flowering. Eighty eight percent of this antagonistic bacteria belonged to the genera *Pseudomonas* and *Bacillus*.

A total of 156 antagonistic bacteria were screened against *Meloidogyne incognita* on potato in the greenhouse. Forty seven bacterial isolates reduced the number of galls and egg masses for more than 25 %. Bacterial isolates effective against *M. incognita* predominantly belonged to the genera *Pseudomonas* (47 %), *Streptomyces* (15 %) and *Paenibacillus* (12 %). The best isolates with multiple effects against all the three pathogens were *Streptomyces violaceusniger* RR76 and *Pseudomonas putida* 3R2-12 originally isolated from the rhizosphere. Both isolates reduced the number of galls caused by *M. incognita* for more than 50 % and caused a strong growth inhibition of *V. dahliae* and *R. solani* and might be potential candidates for the development of new biocontrol agents against these soilborne pathogens.

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>ALLGEMEINE EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>ANALYSE DES BAKTERIENSPEKTRUMS VERSCHIEDENER MIKROHABITATE DER KARTOFFEL</b>	<b>7</b>
2.1	EINLEITUNG	7
2.2	MATERIAL UND METHODEN	8
2.2.1	<i>Versuchspflanzen und Ernte des Pflanzenmaterials</i>	8
2.2.2	<i>Isolierung der Bakterienfraktionen aus unterschiedlichen Pflanzenhabitaten</i>	8
2.2.3	<i>Identifizierung der Bakterien mit FAME-GC</i>	10
2.2.4	<i>Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse</i>	13
2.2.5	<i>Bakterienisolate mit antagonistischer Wirkung gegen pilzliche Schaderreger</i>	16
2.3	ERGEBNISSE	16
2.3.1	<i>Bestimmung der Lebendkeimzahl auf R2A</i>	16
2.3.2	<i>Identifizierung der Bakterien mit FAME-GC</i>	17
2.3.3	<i>Clusteranalyse</i>	18
2.3.4	<i>Charakterisierung der Bakterienpopulationen</i>	20
2.3.5	<i>Bakterienisolate mit antagonistischer Wirkung gegen pilzliche Schaderreger</i>	44
2.4	DISKUSSION	52
2.4.1	<i>Lebendkeimzahl</i>	52
2.4.2	<i>Charakterisierung des Bakterienspektrums</i>	55
2.4.3	<i>Bakterienisolate mit antagonistischer Wirkung gegen pilzliche Schaderreger</i>	62
<b>3</b>	<b>WIRKUNG SELEKTIRTER BAKTERIENISOLATE AUF DEN BEFALL MIT MELOIDOGYNE INCOGNITA AN KARTOFFEL</b>	<b>66</b>
3.1	EINLEITUNG	66
3.2	MATERIAL UND METHODEN	67
3.2.1	<i>Herkunft und Anzucht der Kartoffeln</i>	67
3.2.2	<i>Herstellung des Inokulums</i>	67
3.2.3	<i>Versuchsansatz</i>	68
3.2.4	<i>Statistische Auswertung</i>	69
3.3	ERGEBNISSE	69
3.3.1	<i>Wirkung der Bakterienisolate gegen Meloidogyne incognita</i>	69
3.3.2	<i>Einfluss der Bakterienisolate auf die Wurzel- und Sprossfrischmasse</i>	78
3.4	DISKUSSION	79
3.4.1	<i>Wirkung der Bakterienisolate gegen Meloidogyne incognita</i>	79

3.4.2	<i>Einfluss der Bakterienisolate auf die Wurzel- und Sprossfrischmasse</i>	84
3.4.3	<i>Möglichkeiten zur Verbesserung der antagonistischen Wirkung von Bakterien</i>	86
4	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>90</b>
5	<b>LITERATUR</b>	<b>93</b>
6	<b>ANHANG</b>	<b>111</b>

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Aqua bidest.	zweifach destilliertes Wasser
Aqua demin.	demineralisiertes Wasser
cfu	colony forming unit
cv.	cultivar
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
EC	Entwicklungsstadium
FAME	fatty acid methyl ester
FM	Frischmasse
$\lambda$	Simpsons Index
g	Gramm
GC	Gaschromatographie
H'	Shannon-Index
h	Stunde
HCL	Salzsäure
ISR	Induced Systemic Resistance
L2	infektiöse Larve von <i>M. incognita</i> nach der 2. Häutung
$\mu$ l	Mikroliter
min.	Minute
M. i.	<i>Meloidogyne incognita</i>
n	Anzahl
N0	Anzahl aller Gattungen im Habitat
N1, N2	Diversitätszahlen
NA	Nähragar
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
NaOCl	Natriumhypochlorid
NaOH	Natriumhydroxid (Natronlauge)
OD <sub>560</sub>	Optische Dichte bei 560 nm
P	Phyllosphäre
PE	Endosphäre
PGPR	plant growth-promoting rhizobacteria
pH-Wert	negativ dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionen-Konzentration
PHPR	plant health-promoting rhizobacteria
ppm	parts per million
pv.	Pathovar
R	Rhizosphäre
R1	Index für den Gattungsreichtum
RE	Endorhiza
R.s.	<i>Rhizoctonia solani</i>
RSA	nährstoffarmes Medium zur Anzucht von heterotrophen Organismen
S	Anzahl der Gattungen
sec.	Sekunde
SI	Similarity-Index
spp.	Subspezies
TSB	Tryptic Soy Broth
TSBA	Tryptic Soy Broth Agar, Bibliothek für die Identifizierung von Bakterien, die auf diesem Medium wachsen
UpM	Umdrehungen pro Minute
UNO	United Nations Organization
var.	Varietät
V. d.	<i>Verticillium dahliae</i>
Wdh.	Wiederholung

## 1 Allgemeine Einleitung

### **Pflanzenassoziierte Bakterien**

Pflanzenassoziierte Bakterien besiedeln die Oberflächen oder interne Gewebe der Pflanzen und gehen mit diesen eine enge Wechselbeziehung ein, ohne dabei Schad- oder Befallssymptome zu induzieren. Viele dieser Bakterien haben für die Pflanze vorteilhafte Eigenschaften, wie Förderung der Pflanzengesundheit und des Pflanzenwachstums, und zahlreiche Bakterienisolate wurden bereits für die praktische Anwendung zur biologischen Kontrolle von Pflanzenpathogenen in der Landwirtschaft getestet. Schon früh wurden positive Interaktionen zwischen nicht-pathogenen Bakterien und der Wirtspflanze entdeckt [FINSTEIN & ALEXANDER 1962, WEINHOLD & BOWMAN 1968]. Je nachdem, ob die Förderung des Pflanzenwachstums oder der Pflanzengesundheit im Vordergrund steht, bezeichnet man sie auch als Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) [KLOEPPER et al. 1991b] oder als Plant Health-Promoting Rhizobacteria (PHPR) [SIKORA 1988]. PGPR können das Pflanzenwachstum entweder direkt durch Bildung von Phytohormonen wie Indollessigsäure [LOPER & SCHROTH 1986] oder indirekt durch die Verbesserung der Nährstoffaufnahme, wie Stickstofffixierung oder Verbesserung der Phosphatlöslichkeit [KUCEY et al. 1989, CHABOT et al. 1993, 1998], fördern. PHPR schützen die Pflanze vor Schaderregern durch die Ausbildung verschiedener Abwehrmechanismen und können dadurch indirekt durch die Unterdrückung der Schaderregerpopulation eine positive Wirkung auf das Pflanzenwachstum haben. Bedeutende Mechanismen der Bakterien zur Pathogenabwehr umfassen die Bildung antibiotischer Substanzen, die Konkurrenz um Nährstoffe und Lebensraum und die Expression lytischer Enzyme [FRAVEL 1988, CHET et al. 1990, LUGTENBERG et al. 2001]. Cyanid und Siderophore scheinen bei der biologischen Kontrolle von Schaderregerpopulationen ebenfalls eine Rolle zu spielen [AHL et al. 1986, HAMDAN et al. 1991]. Einige Bakterienstämme sind zudem in der Lage, das pflanzliche Abwehrsystem zu stimulieren und systemische Resistenz (ISR) in der Pflanze gegen Pathogene zu induzieren [HAMMERSCHMIDT & KUĆ 1995, HASKY-GÜNTHER et al. 1998, REITZ et al. 2000, REITZ et al. 2001, SIDDIQUI & SHAUKAT 2002a u. 2002b].

Das Spektrum pflanzenassoziiierter Bakterien ist ganz entscheidend von Pflanzenart und Pflanzenhabitat abhängig. Frühere Arbeiten konzentrierten sich vor allem auf die Charakterisierung des Artenspektrums von Bakterien in einzelnen Pflanzenorganen an unterschiedlichen Kulturpflanzen [zusammengefasst in HALLMANN et al. 1997a und HALLMANN 2001, MAHAFFEE & KLOEPPER 1997a, GERMIDA et al. 1998, JURKEVITCH & SHAPIRA 2000m, FOLMAN et al. 2001, JACOBS & SUNDIN 2001]. An Kartoffeln wurde das Spektrum pflanzenassoziiierter Bakterien erstmals von HOLLIS im Jahr 1951 ansatzweise beschrieben. STURZ [1995] und STURZ et al. [1999] beschrieben das endophytische Bakterienspektrum in



Kartoffelknollen und die Populationsdynamik der Bakterien in der Rhizosphäre vor und nach dem Absterben der Mutterknolle. GARBEVA et al. [2001] untersuchten das endophytische Bakterienspektrum im Stängel und in der Wurzel von Kartoffeln mit kultivierungsabhängigen und -unabhängigen Methoden. Eine intensive Analyse von epi- und endophytischen Bakterien der verschiedenen Kartoffelhabitats blieb jedoch bislang aus. Eine solche Analyse bietet wichtige Informationen über die Dominanz einzelner Bakterienarten und damit über die Möglichkeiten zur Selektion neuer Bakterienisolate für biotechnologische Anwendungen.

### **Wurzelgallennematoden**

Wurzelgallennematoden (*Meloidogyne* spp.) gehören zu der wirtschaftlich sehr bedeutenden Gruppe der pflanzenparasitären Nematoden. Sie sind weltweit verbreitet und haben einen Wirtspflanzenkreis von über 2000 Pflanzenarten [SASSER 1980]. An Kartoffeln verursachen Wurzelgallennematoden den größten wirtschaftlichen Schaden in den wärmeren Gebieten der Tropen und Subtropen mit Ertragsausfällen von bis zu 25 % [SITTERLY & FASSULIOTIS 1965]. Von den über 90 bisher bekannten *Meloidogyne*-Arten sind drei Arten als Schädlinge für den Kartoffelbau besonders bedeutend. Während *M. incognita* (Südlicher Wurzelgallennematode) in den Tropen und Subtropen verbreitet ist, treten *M. hapla* (Nördlicher Wurzelgallennematode) und *M. chitwoodii* (Maiswurzelgallennematode) bevorzugt in gemäßigten Klimazonen auf.

Der Entwicklungszyklus von *Meloidogyne* spp. dauert unter optimalen Bedingungen ca. sechs Wochen und wird durch Faktoren wie Temperatur, pH-Wert, Feuchtigkeit, Bodentextur und der Wirtspflanze selbst beeinflusst [NETSCHER & SIKORA 1990]. Die L2-Larven von *Meloidogyne* spp. dringen in der Streckungszone der Wurzel durch Zerstörung der Epidermiszellen in die Wurzel ein und wandern interzellulär bis zum Zentralzylinder vor, wo sie ihr spezifisches Nährzellensystem induzieren [WYSS et al 1992]. Durch die Ausbildung der so genannten Riesenzellen kommt es zu einer massiven Störung im Wasser- und Nährstoffhaushalt der Pflanze, was über Wachstumshemmungen und Welkeerscheinungen bis zum Absterben der gesamten Pflanze führen kann [NETSCHER & SIKORA 1990]. Spät befallene Tochterknollen zeigen gallenförmige Auswüchse auf der Oberfläche, die die spätere Vermarktung der Kartoffel unmöglich machen. Die Wunden und Beschädigungen an den Wurzelspitzen, die Nematoden nach der Infektion der Wirtspflanze hinterlassen, dienen zudem als Eintrittspforten für sekundäre Pflanzenpathogene wie *Fusarium*- und *Verticillium*-Pilze. Beim Zusammenwirken von *Meloidogyne* spp. mit phytopathogenen Pilzen kann es zu synergistischen Ertragsausfällen kommen [BACK et al. 2002].

### Phytopathogene Pilze

Die phytopathogenen Pilze *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani* verursachen wie *Meloidogyne* spp. weltweit hohe Ertragsausfälle im Kartoffelbau. Der Erreger der *Verticillium*-Welke verursacht Tracheomykosen an zahlreichen Wirtspflanzen, die nicht selten zum Absterben der gesamten Pflanze führen. Im Kartoffelbau kann *V. dahliae* vor allem in warmen Regionen durch Pflanzenausfall bzw. Senkung der Knollenqualität Ertragsverluste von 25 %, in extremen Fällen bis zu 50 %, verursachen [RADTKE & RIECKMANN 1990]. Auch *R. solani*, der Erreger der Wurzeltöterkrankheit, ist weltweit verbreitet und verfügt über einen großen Wirtspflanzenkreis von bis zu 2000 Pflanzenarten [PARMETER 1970]. Der frühe Befall mit diesem Pathogen führt zu Auflaufverzögerungen oder Fehlstellen, spätere Infektionen verursachen Wachstumsdepressionen und Wurzelrotte, was die Wasser- und Nährstoffaufnahme der Pflanze erheblich einschränkt [WALLWORK 1996]. Die Schädigung wird vorwiegend durch Qualitätsminderung und durch Fehlstellen hervorgerufen, was zu Ertragsverlusten von bis zu 20 % führen kann [RADTKE & RIECKMANN 1990]. Beide phytopathogenen Pilze verfügen über eine lang anhaltende Persistenz im Boden. Gleichzeitige Infektion mit *M. incognita* kann das Auftreten von *V. dahliae* und *R. solani* begünstigen und zusätzlich zu synergistischen Ertragsdepressionen führen [JOUBERT & DALMASSO 1972, SCHOLTE & JACOB 1989, ARYA & SAXENA 1999, zusammengefasst in BACK et al. 2002].

Die Anwendung von Fungiziden ist oft sehr teuer und wenig nachhaltig. Viele chemische Pestizide gefährden aufgrund ihrer Toxizität sowohl die Umwelt als auch die Gesundheit von Mensch und Tier [ATKINSON et al. 1998]. Nematizide Substanzen wie DBCP (Dibromchloropropan) und EDB (Ethylendibromid) sind in vielen Ländern aufgrund ihrer umwelt- und gesundheitsgefährdenden Eigenschaften bereits verboten. Methylbromid, eines der wirkungsvollsten Präparate mit einem breiten Wirkungsspektrum gegenüber bodenbürtigen Schaderregern und Unkräutern, wird in naher Zukunft in den meisten Ländern laut internationalem Abkommen seitens der UNO wegen umwelt- und ozonzerstörender Eigenschaften vom Markt verschwinden [ANON 1997]. Deutschland und fast alle anderen Industrieländer verzichten bereits auf die Anwendung von Methylbromid. In den USA muss der Ausstieg bis 2005 vollzogen sein, den Entwicklungsländern räumt das Montreal-Protokoll, das im Jahre 1986 von Vertretern von 46 Staaten zum Schutz der Ozonschicht verabschiedet wurde, für den Ausstieg noch Zeit bis zum Jahr 2015 ein.

### Biologische Bekämpfung bodenbürtiger Schaderreger

Die Dichte der Nematodenpopulation im Boden kann aufgrund der Verfügbarkeit geeigneter Wirtspflanzen und optimaler Lebens- und Entwicklungsbedingungen das ganze Jahr hindurch sehr hoch sein. In den meisten tropischen und subtropischen Regionen wird die Bodenentseuchung zur effektiven Kontrolle von Nematoden angewandt. Doch hohe Kosten und die Toxizität der Bodenentseuchungsmittel fordern die Entwicklung alternativer Bekämpfungsstrategien [REUVENI 1995]. Neben den Maßnahmen des Integrierten Pflanzenschutzes, wie Fruchtfolge, Anbau von Zwischenfrüchten, resistenter Sorten etc., hat die biologische Bekämpfung von Nematoden mit Mikroorganismen in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen [KERRY 1990, SIKORA 1992]. Mikroorganismen, die die Rhizosphäre besiedeln können, stellen eine erste Barriere zur Abwehr bodenbürtiger Pathogene dar und eignen sich daher hervorragend zur biologischen Kontrolle [WELLER 1988]. Im Boden führt das Zusammenspiel von antagonistischen Bakterien und Pilzen, räuberischen Nematoden sowie räuberischen Collembolen und Milben, das so genannte antagonistische Potenzial, zur wirksamen Unterdrückung bodenbürtiger Pflanzenpathogene, einschließlich Zysten- und Wurzelgallennematoden [STIRLING 1991, SIKORA 1992, zusammengefasst in AKHTAR & MALIK 2000]. Die beiden dominanten Gruppen unter den Mikroorganismen im Boden bilden Pilze und Bakterien, von denen einige ein hohes antagonistisches Potenzial zur biologischen Bekämpfung von phytopathogenen Nematoden zeigen [JATALA 1986, WELLER 1988, SAYRE & WALTER 1991, STIRLING 1991, SIDDIQUI & MAHMOOD 1993, 1995]. Zu den potenziellen Antagonisten von phytopathogenen Nematoden zählen fakultative Parasiten wie *Paecilomyces lilacinus* und *Verticillium chlamydosporium*, obligate Parasiten wie *Pasteuria* spp., *Hirsutella* spp. sowie Rhizosphärebakterien und pilzliche und bakterielle Endophyten [STIRLING 1991, SIKORA 1992, HALLMANN 1997a, GUTBERLET 2000]. Zahlreiche Studien berichten vom erfolgreichen Einsatz verschiedenster Bakterienisolate aus der Rhizosphäre gegen *M. incognita* [BECKER et al. 1988, KLOEPPER et al. 1992, RACKE & SIKORA 1992, HOFFMANN-HERGARTEN et al. 1998, SAMALIEV et al. 2000, KRECHEL et al. 2001] und gegen die phytopathogenen Pilze *V. dahliae* und *R. solani* [BERG 1996, JUBINA & GIRIJA 1998, PAL et al. 2000, BERG et al. 2001a, BLOEMBERG & LUGTENBERG 2001, KURZE et al. 2001, SCHMIEDEKNECHT et al. 2001] an verschiedenen Kulturpflanzen.

Der praktische Einsatz dieser Bakterienisolate als kommerzielle biologische Bekämpfungsmittel wird jedoch durch die geringe Wirkungsstabilität und die geringe Beständigkeit im Boden limitiert. Hinzu kommt das meist geringe Wirkungsspektrum und die langsamere Wirkung vieler biologischer Präparate im Vergleich zu synthetischen Pflanzenschutzmitteln [MEYER & ROBERTS 2002]. Die Wirkung dieser Organismen wird durch die Abhängigkeit von biotischen und abiotischen Faktoren teilweise stark beeinflusst

[RAUPACH & KLOPPER 1998, WILSON & BACKMAN 1999]. Zahlreiche Faktoren wie Klima, Bodeneigenschaften, mikrobielle Zusammensetzung im Boden, Pflanzenart, Nährstoffe, Wasser- und Pathogenstress können zu dieser Unbeständigkeit führen [BURKE et al. 1972, BAHME & SCHROTH 1987, BOWERS & PARKE 1993, HALLMANN et al. 1997a, zusammengefasst in BENIZRI et al. 2001]. Der optimale Einsatz biologischer Antagonisten im Integrierten Pflanzenschutz fordert daher umfangreiche Untersuchungen zur Biologie, Ökologie, zum Wirkungsmechanismus und zur Wirkungsstabilität, zur Kompatibilität mit Nicht-Ziel-Organismen sowie die Entwicklung optimaler Formulierungs- und Applikationsmethoden [KERRY 1998, zusammengefasst in SIDDIQUI & MAHMOOD 1999].

Die Besiedlung der Rhizosphäre ist sowohl für die Pathogenabwehr als auch für die Förderung des Pflanzenwachstums essentiell [KLOPPER & BEAUCHAMP 1992, HÖFLICH et al. 1995]. Zwischen Bakterienpopulationen innerhalb eines Ökosystems kann es zu positiven Interaktionen wie Kommensalismus, Mutualismus und Synergismus kommen, die für ein stabiles Gefüge innerhalb des Habitats sorgen [RAYNER 1997]. Manche wachstumsfördernden Rhizosphärebakterien sind auf einigen Böden gegenüber der pflanzenspezifischen Mikroflora jedoch nicht genügend konkurrenzfähig und werden daran gehindert, die Wurzel in dem Maße zu kolonisieren, wie es für eine optimale Wirkung nötig wäre [NEHL et al. 1997]. Das Einbringen neuer Bakterien in eine etablierte Bakteriengemeinschaft kann auch zu negativen allelopathischen Effekten und somit zur Verdrängung des jeweiligen Mikroorganismus führen [STURZ & CHRISTIE 1995, 1996]. Die Etablierung eines neuen Bakteriums in einem bestehenden Populationsgefüge wird somit scheinbar durch eine Form von defensivem Mutualismus unterbunden [CLAY 1988]. Dies gilt sowohl für wachstums- und pflanzengesundheitsfördernde als auch für phytopathogene Bakterien. Im Hinblick auf die biologische Bekämpfung bodenbürtiger Schaderreger erscheint es daher sinnvoll, pflanzenspezifische Bakterienstämme zu selektieren, die bereits in der natürlichen Bakterienpopulation der entsprechenden Kulturpflanze etabliert sind.

Der Einsatz von Rhizosphärebakterien kann einen protektiven Schutz vor der Infektion von Pilzen bzw. der Eindringung von Nematoden über die Wurzelspitze bzw. Wurzelhaarzone bieten [RACKE & SIKORA 1992, BERG et al. 1994, BERG et al. 1999]. Nach erfolgreicher Infektion der Pathogene können Rhizosphärebakterien jedoch die Ausbreitung des Pilzes bzw. die Bildung des für den Nematoden spezifischen Nährzellengewebes nicht mehr verhindern, und es kommt an der Pflanze zur Ausbildung von Schadsymptomen wie Welkeerscheinungen und Wachstumsdepressionen. Den endophytischen Bakterien kommt hier eine immer größer werdende Bedeutung zu. Sie können die gleichen ökologischen Nischen wie die Endopathogene besiedeln, stehen dabei mit ihnen in Konkurrenz um

Nährstoffe und Lebensraum und können durch die Produktion antibiotischer Substanzen direkt zur Reduktion der Schaderregerpopulation beitragen [HALLMANN et al. 2001]. HALLMANN et al. [2003] vermuten zudem eine bessere und schnellere Resistenzinduktion mancher endophytischer Bakterien durch die Ausbildung einer stärkeren Bindung zu der Pflanze als es bei Rhizosphärebakterien der Fall ist. Zahlreiche Studien zeigten bereits, dass Interaktionen zwischen Pflanze und endophytischen Bakterien mit vorteilhaften Eigenschaften verknüpft sein können, wie der Förderung des Pflanzenwachstums und der Pathogenabwehr [CHEN et al. 1995, STURZ & MATHESON 1996, HALLMANN & SIKORA 1996, zusammengefasst in HALLMANN et al. 1997a, HALLMANN et al. 1998, zusammengefasst in STURZ et al. 2000, BARKA et al. 2002]. Für sedentäre Endoparasiten wie *M. incognita*, die über sechs Wochen in der Pflanzenwurzel verbleiben und sich nur aus einem Nährzellensystem ernähren, aber auch für vasculäre Welkepathogene wie *V. dahliae*, die die Leitgefäße der Pflanze besiedeln, sind endophytische Bakterien ideale Kandidaten für deren Bekämpfung. Für die Kartoffel sind schon einige Bakterienstämme mit sowohl wachstumsfördernden als auch antagonistischen Eigenschaften bekannt [VAN BUREN et al. 1993, STURZ 1995, STURZ & MATHESON 1996, STURZ et al. 1999, REITER et al. 2002]. Jedoch fehlen bislang Untersuchungen zur antagonistischen Wirkung natürlicherweise in Kartoffeln vorkommender Bakterien gegen die Pathogene *M. incognita*, *V. dahliae* und *R. solani*.

Um das antagonistische Potenzial kartoffelassoziiierter Bakterien charakterisieren zu können und weitere Alternativen zur Verbesserung der biologischen Kontrolle von bodenbürtigen Kartoffelpathogenen zu finden, beschäftigte sich die vorliegende Arbeit mit folgenden Kernfragen:

- Wie sehen die Populationsstrukturen der Bakteriengattungen in den unterschiedlichen Kartoffelhabitaten aus?
- Gibt es Veränderungen in der Zusammensetzung der Bakterienpopulationen im Laufe der Vegetationsperiode?
- Wie hoch ist der Anteil antagonistischer Bakterien am gesamten Bakterienspektrum und in welchen Habitaten überwiegt er?
- Wie verändert sich der Anteil antagonistischer Bakterien im Laufe der Vegetationsperiode?
- Gibt es antagonistische Bakterien mit multifunktionaler Wirkung gegen die Pathogene *M. incognita*, *V. dahliae* und *R. solani*?
- Gibt es Möglichkeiten zur Stabilisierung und Verbesserung der antagonistischen Wirkung von Bakterien gegen die drei bodenbürtigen Pflanzenpathogene?

## 2 Analyse des Bakterienspektrums verschiedener Mikrohabitate der Kartoffel

### 2.1 Einleitung

Die Charakterisierung des Bakterienspektrums der verschiedenen Kartoffelhabitate Rhizosphäre, Endorhiza, Phyllosphäre und Endosphäre verschafft nicht nur einen Einblick in die Populationsstrukturen kartoffelassoziierter Bakterien und deren Veränderung im Laufe der Vegetationsperiode, sondern schafft auch eine Grundlage für Entwicklung biologischer Pflanzenschutzmittel. Untersuchungen des Bakterienspektrums wurden an verschiedenen Kulturpflanzen durchgeführt. So analysierten MAHAFFEE & KLOPPER [1997a, 1997b] die Zusammensetzung von Bakterienpopulationen des Bodens sowie der Rhizosphäre und der Endorhiza von Gurken und ihre Veränderung im Laufe der Vegetationsperiode. SICILIANO et al. [1998] untersuchten sortenspezifische Unterschiede im Bakterienspektrum der Rhizosphäre und Endorhiza verschiedener Weizen- und Raps-Sorten. HALLMANN et al. [1997a] beschrieben die Populationsdynamik und Besiedlungsstrategien endophytischer Bakterien an verschiedenen Kulturpflanzen. Erste Beschreibungen des Bakterienspektrums der Kartoffel erfolgten bereits im Jahr 1951 durch HOLLIS. STURZ et al. [1997, 1998, 1999] sowie STURZ [1995] und STURZ und MATHESON [1996] untersuchten intensiv die Biodiversität von endophytischen Bakterien und ihre Rolle als Wachstumsförderer und potenzielles Mittel zur Pathogenabwehr an Kartoffeln.

Über das Gesamtspektrum kartoffelassoziierter Bakterien und ihre Populationsdynamik im Laufe der Vegetationsperiode in den verschiedenen Habitaten ist noch wenig bekannt. Ebenso wie über mögliche Interaktionen zwischen epiphytisch und endophytisch lebenden Bakterien der Kartoffel. Auch die Funktion der pflanzenassoziierten Bakterien für die Pflanze wurde erst ansatzweise untersucht. Verschiedene Untersuchungen zeigten, dass Rhizosphärebakterien eine antagonistische Wirkung gegenüber den phytopathogenen Pilzen *Verticillium dahliae* [BERG & BALLIN 1994, BERG 1996, BERG et al. 2002] und *Rhizoctonia solani* [KIEWNICK et al. 2001, SIDDIQUI & SHAUKAT 2002b] haben. Wirksame Effekte von Endophyten aus der Endorhiza gegen *V. albo-atrum* und *R. solani* an Kartoffeln wurden von NOWAK et al. [1995] und PLEBAN et al. [1995] beschrieben. Über das antagonistische Potenzial kartoffelassoziierter Bakterien, besonders das der Phyllosphäre und Endosphäre im Hinblick auf die pilzlichen Pathogene *V. dahliae* und *R. solani*, ist bisher jedoch nur wenig bekannt.

Im vorliegenden Kapitel sollen die bakteriellen Populationsstrukturen der verschiedenen Mikrohabitate der Kartoffelpflanze näher untersucht werden. Die Charakterisierung soll Aufschluss über die Populationszusammensetzung der verschiedenen Lebensräume, mögliche Besiedlungsstrategien von Endophyten und über das antagonistische Potenzial im Hinblick auf die biologische Bekämpfung der bodenbürtigen Pathogene *V. dahliae* und *R. solani* geben.

## **2.2 Material und Methoden**

### **2.2.1 Versuchspflanzen und Ernte des Pflanzenmaterials**

Als Versuchspflanzen dienten Kartoffelpflanzen der Sorte 'CILENA'. In den Jahren 2001 und 2002 wurden auf dem Versuchsfeld des Institutes für Pflanzenkrankheiten in Bonn jeweils drei Probennahmen zu den Entwicklungsstadien EC 20 (Blatt- und Stängelausbildung), EC 60 (Blüte) und EC 80 (Vergilbung der Pflanze) durchgeführt. Die Probennahme und Probenaufbereitung erfolgte in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von P.D. Dr. Gabriele Berg, Institut für Molekulare Physiologie und Biotechnologie; Mikrobiologie, der Universität Rostock im Rahmen des DFG-Projektes „Molekulare Analyse kartoffelassoziierter Bakterien unter besonderer Berücksichtigung antagonistischer Endophyten“ (GZ: SI 253/30-3 und BE 1845/4-3). Pro Termin wurden jeweils vier (2001), bzw. fünf (2002) Versuchspflanzen beprobt, wobei es sich über die Vegetationsperiode immer um die gleichen Pflanzen handelte. Es wurden Wurzel- und Blattproben genommen. Das Probenmaterial wurde gekühlt ins Labor gebracht und sofort aufbereitet.

Die Entnahme von Blättern und Wurzeln erfolgte mit Einweg-Handschuhen, die nach jedem Habitat und jeder Pflanze mit 70 % Ethanol desinfiziert wurden, um ein Übertragen von Bakterien auf andere Proben zu vermeiden. Pro Pflanze wurden jeweils 2 x 5 g Blatt- und 2 x 3 g Wurzelmasse plus Rhizosphärenerde entnommen.

### **2.2.2 Isolierung der Bakterienfraktionen aus unterschiedlichen Pflanzenhabitaten**

Zur Isolation der Bakterien aus den Pflanzenhabitaten Rhizosphäre, Phyllosphäre, Endorhiza und Endosphäre wurden von dem gewonnenen Pflanzenmaterial jeweils 3 g in 27 ml (Verdünnung 1:10) steriler NaCl-Lösung (0,9 %) 10 min. bei 120 UpM geschüttelt. Die Suspension wurde mit Hilfe je eines Faltenfilters filtriert und 1 ml des Filtrates zur Isolation von Bakterien aus Rhizosphäre und Phyllosphäre entnommen. Aus dem restlichen Filtrat wurde die DNA zur Charakterisierung nicht-kultivierbarer Bakterien extrahiert [siehe KRECHEL, in Vorbereitung].

### **2.2.2.1 Isolation der Bakterien aus der Rhizosphäre und Phyllosphäre**

Von dem Filtrat der Bakteriensuspension wurde jeweils 1 ml entnommen und seriell verdünnt. Die Rhizosphärensuspension wurde bis zu einer Konzentration von  $10^{-6}$ , die Phyllosphärensuspension bis  $10^{-4}$  verdünnt. Jeweils 100 µl der drei letzten Verdünnungsstufen wurden in zwei Wiederholungen per Hand mit dem Drigalski-Spatel auf R2A-Agar (MERCK, Darmstadt) ausplattiert. Das R2A-Medium war mit 50 ppm Nystatin versetzt, um das Wachstum von Pilzen und Hefen zu unterdrücken. Nach einer Inkubationszeit von 4–5 Tagen bei 20 °C in Dunkelheit wurde die Bakteriendichte (cfu/g Frischmasse) bestimmt. Weiterhin wurden jeweils 30 Isolate pro Platte, Habitat und Pflanze zur weiteren Charakterisierung selektiert. Hierzu wurden einzelne Kolonien mit sterilen Zahnstochern auf Nähragar-Platten übertragen und in Reinkultur genommen. Es wurden möglichst unterschiedliche Phänotypen ausgewählt, um ein breites Spektrum verschiedener Bakterien, vor allem in bezug auf die potenziell antagonistisch wirksamen Isolate, zu erhalten.

### **2.2.2.2 Isolation von Bakterien aus der Endorhiza und Endosphäre**

Für die Isolation der endophytischen Bakterien aus Wurzeln (Endorhiza) und Blättern (Endosphäre) wurde das Pflanzenmaterial unter fließendem Leitungswasser gewaschen und erneut gewogen. Danach erfolgte die Oberflächensterilisation des Gewebes mit einer 2%igen NaOCl-Lösung für 3 min. und anschließend dreimaliges Waschen in steriler NaCl-Lösung (0,9 %). Zur Überprüfung der vollständigen Oberflächensterilisation wurden die Wurzeln bzw. Blätter auf TSB-Agar gepresst und 24 h bei 25 °C inkubiert. Von jeder Probe wurde nur die Wiederholung weiterverwendet, die nach der Inkubation kein bakterielles Wachstum zeigte.

Nach der Oberflächensterilisation erfolgte das Mazerieren des Pflanzengewebes in sterilen Mörsern unter Zugabe von 5 ml NaCl (0,9 %). Das Mazerat wurde in weiteren 5 ml aufgenommen. Von dem Mazerat wurde jeweils 1 ml abgenommen und seriell verdünnt. Da das Bakterienspektrum in diesen Habitaten weitaus geringer ist als in Rhizo- oder Phyllosphäre und auch innerhalb der Pflanze akropetal zum Blatt hin abnimmt, wurde das Mazerat der Endorhiza nur bis zu einer Konzentration von  $10^{-3}$ , das der Endosphäre bis  $10^{-2}$  verdünnt. Das Ausplattieren von jeweils 100 µl aller Verdünnungsstufen auf R2A-Agar erfolgte auch hier per Hand mit dem Drigalski-Spatel in zwei Wiederholungen. Die Bestimmung der Keimzahl und Vereinzelung der Bakterienisolate wurde wie bei der Rhizosphäre und Phyllosphäre durchgeführt.



### **2.2.2.3 Anzuchtmedien**

Die Isolation der Bakterien erfolgte auf nährstoffarmem R2A-Agar. Zur Anzucht und Vermehrung wurden Bakterien auf 1,5 % Nähragar ausplattiert und 1-2 Tage bei 24–28 °C angezogen. Für die Sterilitätskontrollen wurde 1,5 % TSB-Agar verwendet. Die Medien wurden 20 min. bei 121 °C sterilisiert, auf eine Temperatur von etwa 60 °C abgekühlt und danach in sterile Petrischalen gegossen. Zur Herstellung antibiotikahaltiger Nährmedien erfolgte die Zugabe der jeweiligen Antibiotikum-Stammlösung (100 mg/ml) nach Abkühlung des Mediums auf 50 °C. Flüssigmedien zur Anzucht von Bakterien wurden entsprechend ohne Zusatz von Agar hergestellt.

Zusammensetzung der verschiedenen Nährmedien:

#### **R2A- Agar**

14,65 g R2A- Agar (DIFCO)

800 ml Aqua demin.

#### **Nähragar (1,5 %)**

6,4 g Nährbouillon (MERCK)

12 g Wasseragar (MERCK)

800 ml Aqua demin.

#### **TSB- Agar (1,5 %)**

24 g Tryptic Soy Broth (DIFCO)

12 g Wasseragar (MERCK)

800 ml Aqua demin.

### **2.2.2.4 Konservierung der Bakterienisolate**

Nach der Isolation und Vereinzelung der Bakterien wurden die Isolate in Eppendorf-Reaktionsgefäßen in steriler Nährbouillon mit 15 % Glycerin für 20 min. suspendiert und bei –20 °C eingefroren. Die langfristige Lagerung antagonistischer Bakterienisolate erfolgte in Kryogefäßen (Mast Diagnostica, 126392) bei –80 °C.

### **2.2.3 Identifizierung der Bakterien mit FAME-GC**

Die Identifizierung aller isolierten Bakterien erfolgte anhand ihres Fettsäurespektrums mit Hilfe der FAME-Gaschromatographie (Fatty Acid Methyl Ester). Die Aufbereitung der Proben für die gaschromatographischen Analysen erfolgte mittels des von SASSER [1990] beschriebenen Extraktionsverfahrens zur Identifikation aerober Bakterien. Für die Benutzung einer standardisierten Bibliothek war ein standardisiertes Extraktionsverfahren nötig, da jede

Veränderung in der Methodik eine quantitative Verschiebung der Fettsäureprofile und damit eine fehlerhafte Art- bzw. Gattungsbestimmung zur Folge gehabt hätte.

### **2.2.3.1 Fettsäureextraktion**

#### **2.2.3.1.1 Medium**

Für das Extraktionsverfahren und die Bestimmung aerober Bakterien wurde ein standardisiertes Medium verwendet.

#### **TSB-Agar (2 %)**

24 g Trypticase Soy Broth (BD Biosciences, 211768)

16 g Bacto™-Agar (BD Biosciences, 214010)

800 ml Aqua demin.

Das Medium wurde bei 121 °C für 15 min. autoklaviert, auf ca. 60 °C abgekühlt und zu je 25 ml in sterile Petrischalen gegossen.

#### **2.2.3.1.2 Anzucht der Bakterien**

Zunächst wurden die in –20 °C gelagerten Isolate auf Nähragar übertragen und 24 h–48 h bei 20–25 °C vorkultiviert. Danach wurden sie auf TSB-Agar (2 %) fraktioniert ausgestrichen und exakt 24 h bei 28 °C inkubiert. Der fraktionierte Ausstrich auf den TSA-Platten erfolgte in vier Quadranten, wobei nach dem zweiten Quadranten eine saubere Impföse verwendet wurde. Für die Extraktion wurde die Bakterienmasse des dritten Quadranten mit einer sterilen Impföse aufgenommen. War nicht genügend Material für das Füllen der Impföse vorhanden, wurde sie mit Bakterien aus dem zweiten Quadranten und gegebenenfalls aus dem ersten Quadranten gefüllt. Die Bakterien wurden danach auf den Grund eines hitzestabilen Glasröhrchens überführt. Actinomyceten, die auf Agar feste Kolonien bildeten, wurden entsprechend in Flüssigmedium (TSB ohne Agar) für 24–48 h auf dem Schüttler bei 100 UpM und 28 °C angezogen. Danach erfolgte die Zentrifugation für 20 min. bei 5200 UpM. Das Kulturfiltrat wurde verworfen, und die Bakterien konnten ebenfalls mit einer sterilen Impföse in die Glasröhrchen überführt werden.

Für das Extraktionsverfahren wurden vier verschiedene Lösungen benötigt:

#### **Reagenz 1: Verseifung (Saponifikation)**

NaOH (ACS grade, MERCK)	45 g
Methanol (HPLC grade)	150 ml
Aqua bidest.	150 ml

**Reagenz 2: Methylierung**

6,0 N HCl	325 ml
Methanol (HPLC grade)	275 ml

**Reagenz 3: Extraktion**

Hexan (HPLC grade)	200 ml
Methyl tert-Butyl Ether	200 ml

**Reagenz 4: Waschen**

NaOH (ACS grade)	10,8 g
Aqua bidest.	900 ml

Die Extraktion der Fettsäuremethylester erfolgte in weiteren vier Schritten:

**1. Verseifung (Saponifikation)**

Den Bakterienzellen wurde 1,0 ml der Reagenzlösung 1 zugesetzt. Jedes Röhrchen wurde ca. 8 sec. mit einem Vortexer kräftig geschüttelt, für 5 min. in einem Wasserbad von 100 °C erhitzt, nochmals geschüttelt und anschließend für 25 min. bei 100 °C inkubiert. Durch die Kombination einer starken Base mit großer Hitze wurden die Zellwände der Bakterien zerstört und die Fettsäuren von zellulären Lipiden getrennt. Die Abkühlung erfolgte langsam bei Raumtemperatur.

**2. Methylierung**

Nach einer Abkühlzeit von 15 min. bei 20 °C erfolgte die Zugabe von jeweils 2 ml der Reagenzlösung 2. Die Glasröhrchen wurden wieder für ca. 8 sec. auf dem Vortexer geschüttelt und anschließend für 10 min. in einem Wasserbad auf 80 °C erwärmt. Danach wurden sie sofort in kaltem Leitungswasser auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Umwandlung der als Natriumsalze vorliegenden Fettsäuren in Fettsäuremethylester erhöht deren Löslichkeit während der gaschromatographischen Analysen.

**3. Extraktion**

Zur Überführung der Fettsäuren in die anorganische Phase, wurde jedem Glasröhrchen 1,25 ml der Reagenzlösung 3 zugegeben. Nach 10 min. auf dem Überkopfschüttler wurde die untere (wässrige) Phase mit einer Pasteurpipette aufgenommen und verworfen.

#### 4. Waschen

Mit der Zugabe von 3 ml der basischen Waschlösung (Reagenz 4) und anschließenden 5 min. auf dem Überkopfschüttler erfolgte die Reinigung der organischen Phase von Verschmutzungen und noch freien Fettsäuren aus den vorhergehenden Arbeitsschritten.

Nach der Phasentrennung wurden  $\frac{2}{3}$  der oberen Phase in ein GC-Analysengefäß überführt und mit einem Aluminiumdeckel mit gummiertem Septum verschlossen. Vor der Überführung der oberen Phase in die Probengefäße wurden der Emulsion einige Tropfen gesättigter NaCl-Lösung zugesetzt, um eine klare Phase zu erhalten.

##### 2.2.3.1.3 GC-Analyse

Für die gaschromatographische Auftrennung der Fettsäuren stand das GC-System 5890, Serie II von Hewlett Packard mit einer mit 5 % Silikon beschichteten, 25 m langen und 0,2 mm dicken Säule zur Verfügung. Die Eichung des Systems erfolgte über einen standardisierten Kalibrationsmix aus gesättigten Fettsäuren mit Kettenlängen zwischen nC9:0 bis nC20:0 sowie 2- und 3-Hydroxyfettsäuren. Die Identifizierung der unbekannten Bakterienisolate anhand ihres Fettsäurespektrums erfolgte mit Hilfe der MIDI Identifikationssoftware, Version 3.9, TSBA (Microbial Identification System, Newark, Delaware, USA). Über den Similarity-Index, einem Kalkulationswert, der die relative Distanz des Fettsäurespektrums der Probe zum Fettsäurespektrum der Bakterienart und dem ähnlichsten Profil aus der Datenbank angibt, wird die Genauigkeit der Übereinstimmung beider Isolate ausgedrückt. In Abhängigkeit des Similarity-Indexes (SI) wurden die Isolate einer Art (SI>0,5) bzw. einer Gattung (SI=0,2–0,5) zugeordnet oder als unbekannte Art (SI<0,2) eingestuft. War die Differenz im SI zwischen dem ersten und dem zweiten match größer als 0,1, konnte die Identifizierung einer Bakterienart als zuverlässig angesehen werden. In Abbildung 1 ist ein Ausdruck einer GC-Analyse dargestellt. Den Bakterienarten werden die entsprechenden Similarity-Indices (SI) zugeordnet. Der SI für die Bakterienart *Arthrobacter protoformiae/ramosus* beträgt hier 0,756.

#### 2.2.4 Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

Mit der MIDI-Identifikationssoftware konnte eine Vielzahl an Bakterienisolaten nicht eindeutig bestimmt werden. Entweder war kein ähnliches Fettsäuremuster entsprechend dem Bakterienisolat in der Datenbank vorhanden, oder der Similarity-Index lag unter 0,2. Für diese Isolate wurde eine Hierarchische Clusteranalyse durchgeführt und die Isolate bis zur Gattungsebene eingeordnet und gruppiert. Die Prozentwerte der einzelnen Fettsäuregehalte wurden hierbei durch Standardisierung mit der Standardabweichung transformiert und die Grenzen der Euklidischen Distanz für Bakterienarten bei 2,5 und für Bakteriengattungen bei

9,0 (standardisierte Euklidische Distanz) festgelegt. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mittels des Computerprogramms SPSS, Version 11.0.

Die statistische Auswertung der Bakterienpopulationen in den verschiedenen Habitaten und Jahren wurde nicht durchgeführt, da die Probennahmen der Jahre 2001 und 2002 sehr inhomogenes Datenmaterial mit sich brachten. Durch unterschiedliches bzw. teilweise auch sehr unzureichendes Wachstum der Bakterienkolonien auf den Agar-Platten entstanden ungleichmäßige Stichprobenumfänge. Dazu waren in einzelnen Varianten teilweise nur wenige Gattungen (mitunter nur eine Gattung) vertreten, die zur Verfälschung der statistischen Aussage geführt hätten. Zur Charakterisierung der Bakterienpopulationen wurden alternativ die nachfolgend beschriebenen Diversitätsindices berechnet.

Sherlock Version: 1.06 DATA3:C102A08697 10-OCT-02 11:33:36

ID: 15639 6RE4-28 Date of run: 10-OCT-02 11:08:14  
Bottle: 47 SAMPLE [AEROBE]

RT	Area	Ar/Ht	Respon	ECL	Name	%	Comment 1	Comment 2
1.707	170131800	0.025	. . .	7.011	SOLVENT PEAK . . . . .	. . .	< min rt	
6.391	2202	0.033	0.985	13.618	14:0 ISO . . . . .	3.08	ECL deviates -0.000	Reference -0.001
6.882	876	0.037	0.974	14.000	14:0 . . . . .	1.21	ECL deviates -0.000	Reference -0.001
7.794	5034	0.036	0.958	14.622	15:0 ISO . . . . .	6.84	ECL deviates 0.001	Reference 0.001
7.927	51384	0.036	0.956	14.712	15:0 ANTEISO . . . . .	69.72	ECL deviates 0.001	Reference 0.002
9.350	6798	0.041	0.940	15.625	16:0 ISO . . . . .	9.07	ECL deviates -0.001	Reference -0.001
9.948	1722	0.043	0.936	15.999	16:0 . . . . .	2.29	ECL deviates -0.001	Reference -0.002
11.164	5910	0.042	0.928	16.723	17:0 ANTEISO . . . . .	7.79	ECL deviates 0.001	Reference -0.001

Solvent Ar	Total Area	Named Area	% Named	Total Amnt	Nbr Ref	ECL Deviation	Ref ECL Shift
170131800	73926	73926	100.00	70474	7	0.001	0.001

TSBA [Rev 3.90]	Arthrobacter . . . . .	0.756
	A. protophormiae/ramosus . . . . .	0.756
	A. ilicis . . . . .	0.733
	A. ramosus** . . . . .	0.599
	Paenibacillus . . . . .	0.568 (Bacillus)
	P. polymyxa . . . . .	0.568 (Bacillus)
	Micrococcus . . . . .	0.567
	M. varians* . . . . .	0.567
	M. kristinae . . . . .	0.448
CLIN [Rev 3.90]	Bacillus . . . . .	0.487
	B. circulans . . . . .	0.487
	Paenibacillus . . . . .	0.459
	P. polymyxa . . . . .	0.459
	Micrococcus . . . . .	0.353
	M. luteus . . . . .	0.353
	M. l. GC subgroup A* . . . . .	0.353
	M. varians . . . . .	0.221
	M. kristinae . . . . .	0.205

**Abb. 1:** Ausdruck einer FAME-GC Analyse

**2.2.4.1 Diversitätsindices**

Zur Charakterisierung der Bakterienpopulationen und Berechnung der Diversität auf Gattungsebene wurden folgende Diversitätsparameter nach LUDWIG & REYNOLDS [1988] für die Auswertung herangezogen:

**Gattungsreichtum (richness):**

N0: Anzahl aller Gattungen im Habitat

R1: MARGALEF [1958] Index

$$R1 = S - 1 / \ln(n)$$

wobei S = Anzahl der Gattungen und n = Anzahl der Isolate der Stichprobe

**Diversität (diversity):**

$\lambda$ : SIMPSON'S [1949] Index

$$\lambda = \frac{1}{\sum_{i=1}^S n_i(n_i-1)/n(n-1)}$$

$\lambda$  liegt zwischen 0 und 1, Maß für die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Individuen zu einer Population gehören (hohe Wahrscheinlichkeit = geringe Diversität (s. Berechnung N2)).

H': Shannon [SHANNON und WEAVER 1949] Index

$$H' = - \sum_{i=1}^S [(n_i/n) \ln(n_i/n)]$$

H' ist der Grad der Unsicherheit, mit der ein zufällig der Stichprobe entnommenes Individuum einer bestimmten Gattung angehört. H' steigt mit der Anzahl der Gattungen und je gleichmäßiger die Individuen auf die Gattungen verteilt sind (Maximum bei gleicher Verteilung der Individuen auf die Gattungen).

N1: HILL'S [1973] 1. Diversitätszahl

$$N1 = e^{H'}$$

N2: HILL'S [1973] 2. Diversitätszahl

$$N2 = 1/\lambda$$

**Verteilung (Evenness)**

$$E5 = (N2-1)/(N1-1)$$

Die Evenness wird auch „Ausbildungsgrad der Diversität“ genannt, da der Diversitätsindex allein nicht erkennen lässt, ob ihm eine hohe Gattungszahl mit unterschiedlicher Anzahl von Individuen oder eine gleichmäßige Verteilung der Individuen auf wenige Gattungen zugrunde liegt.

### 2.2.5 Bakterienisolate mit antagonistischer Wirkung gegen pilzliche Schaderreger

Alle aus den Probennahmen gewonnenen Bakterienisolate wurden im Rahmen des bereits erwähnten Projektes an der Universität Rostock mit Hilfe eines Dualkulturtests auf antagonistische Wirkung gegen die pilzlichen Schaderreger *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani* getestet. Die antagonistischen Isolate wurden im weiteren Verlauf der Arbeit auf ihre antagonistische Aktivität gegen den Wurzelgallennematoden *Meloidogyne incognita* an Kartoffeln getestet (siehe Kapitel 3).

## 2.3 Ergebnisse

### 2.3.1 Bestimmung der Lebendkeimzahl auf R2A

Die Bestimmung der Lebendkeimzahl sämtlicher Bakteriensuspensionen erfolgte auf nährstoffarmem R2A-Agar. Die bakterielle Populationsdichte schwankte in Abhängigkeit von Mikrohabitat und Probennahmetermin (Tab. 1).

**Tab. 1:** Durchschnittliche Lebendkeimzahl der Bakterien (cfu/g) in Abhängigkeit von Habitat, Anbaujahr und Vegetationsstadium

EC-Stadium	2001			2002		
	EC 20 <sup>a</sup>	EC 60 <sup>b</sup>	EC 80 <sup>c</sup>	EC 20 <sup>a</sup>	EC 60 <sup>b</sup>	EC 80 <sup>c</sup>
<b>Rhizosphäre</b>	$2,4 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$	$3,29 \times 10^7$	$1,62 \times 10^7$	$6,08 \times 10^7$
<b>Phyllosphäre</b>	$3,0 \times 10^5$	$2,4 \times 10^5$	$1,0 \times 10^7$	$7,31 \times 10^3$	$1,7 \times 10^4$	$2,24 \times 10^7$
<b>Endorhiza</b>	$4,9 \times 10^3$	$1,8 \times 10^6$	$4,2 \times 10^7$	$3,18 \times 10^3$	$5,53 \times 10^4$	$6,32 \times 10^5$
<b>Endosphäre</b>	$4,7 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	$0,8 \times 10^4$	$0,62 \times 10^1$	$5,58 \times 10^3$	$0,43 \times 10^1$

Entwicklungsstadien: <sup>a</sup> EC 20=Jugend, <sup>b</sup> EC 60=Blüte, <sup>c</sup> EC 80=Reife

Generell war im Verlauf der Vegetationsperiode ein Anstieg der Lebendkeimzahlen in den einzelnen Habitaten zu beobachten. Eine Ausnahme bildete hier die Bakteriendichte in der Rhizosphäre. Hier stieg die Populationsdichte der Bakterien nicht an, sondern blieb im Vegetationsverlauf sowohl in 2001 als auch in 2002 relativ konstant. Die Populationsdichte in 2002 lag mit durchschnittlich  $3,7 \times 10^7$  cfu/g Frischmasse (FM) unter der des Vorjahres mit durchschnittlich  $2,4 \times 10^8$  cfu/g FM. Von allen Habitaten war die Bakteriendichte in der Rhizosphäre am höchsten. Die Keimzahlen in der Phyllosphäre variierten sowohl innerhalb der Vegetationsperiode als auch zwischen den Jahren. In 2001 war die Ausgangsdichte mit  $3,0 \times 10^5$  cfu/g FM höher als in 2002 ( $7,3 \times 10^3$  cfu/g FM). Sie sank bis zum Stadium der Blüte minimal ab und stieg dann zum Ende der Vegetation auf  $1 \times 10^7$  cfu/g FM an. In 2002 stieg die Populationsdichte der Phyllosphäre dagegen kontinuierlich auf  $2,24 \times 10^7$  cfu/g FM

zum Stadium der Reife an und erreichte damit ähnliche Werte wie in 2001. Die Populationsdichten der Endorhiza waren in beiden Jahren zu Beginn der Vegetationsperiode mit  $4,9 \times 10^3$  cfu/g FM (2001) bzw.  $3,2 \times 10^3$  cfu/g FM (2002) recht ähnlich, veränderten sich aber im Verlauf der Vegetationsperiode unterschiedlich. In 2001 stiegen die Keimzahlen bis zum Stadium der Reife auf  $4,2 \times 10^7$  cfu/g FM an. Demgegenüber erreichte der Anstieg der Populationsdichte in 2002 nur  $6,3 \times 10^5$  cfu/g FM. In der Endosphäre war die Dichte der Bakterienpopulationen am geringsten. In 2001 betrug sie anfänglich  $4,7 \times 10^2$  cfu/g FM und stieg dann über  $1,0 \times 10^3$  cfu/g FM zur Blüte auf  $0,8 \times 10^4$  cfu/g FM gegen Ende der Vegetationsperiode an. Ein solch kontinuierlicher Anstieg war im Jahr 2002 nicht gegeben. Hier waren die Keimzahlen zu Beginn und zum Ende der Vegetationsperiode mit  $0,62 \times 10^1$  cfu/g FM bzw.  $0,43 \times 10^1$  cfu/g FM extrem niedrig, wohingegen die Populationsdichte während der Blüte mit  $5,58 \times 10^3$  cfu/g FM ein ähnliches Niveau wie in 2001 erreichte.

### 2.3.2 Identifizierung der Bakterien mit FAME-GC

In den Jahren 2001 und 2002 wurden pro Probennahme, Habitat und Pflanze 30 Bakterienisolate bestimmt. Um das breite Spektrum kartoffelassoziierter Bakterien zu erfassen, wurden möglichst verschiedene Phänotypen ausgewählt. Bei den endophytischen Bakterien war die Anzahl der Kolonien insgesamt begrenzt, so dass für die Endosphäre und Endorhiza nicht immer die volle Bakterienanzahl erreicht wurde. Hinzu kam, dass einige Isolate nach dem Einfrieren bei  $-20^\circ\text{C}$  nicht mehr lebensfähig waren und damit auch nicht mehr charakterisiert werden konnten. Insgesamt wurden in den Jahren 2001 und 2002 2716 Isolate mittels FAME-Gaschromatographie identifiziert (Tab. 2).

Alle nachfolgenden Untersuchungen und Auswertungen wurden überwiegend auf Gattungsebene durchgeführt, da zahlreiche Bakterienisolate aufgrund geringer SI-Differenzen nicht eindeutig einer bestimmten Bakterienart zugeordnet werden konnten und auch die Clusteranalyse nur auf Gattungsebene durchführbar war.

**Tab. 2:** Anzahl der untersuchten Bakterienisolate pro Habitat, Vegetationsperiode und Probennahmetermin

EC-Stadium	2001			2002		
	EC 20 <sup>a</sup>	EC 60 <sup>b</sup>	EC 80 <sup>c</sup>	EC 20 <sup>a</sup>	EC 60 <sup>b</sup>	EC 80 <sup>c</sup>
<b>Rhizosphäre</b>	119	132	107	117	145	138
<b>Phyllosphäre</b>	132	119	101	119	120	130
<b>Endorhiza</b>	92	144	118	72	141	137
<b>Endosphäre</b>	68	127	119	36	100	83
Summe	411	522	445	344	506	488
<b>Gesamt</b>	<b>2716</b>					

Entwicklungsstadien: <sup>a</sup> EC 20=Jugend, <sup>b</sup> EC 60=Blüte, <sup>c</sup> EC 80=Reife



### 2.3.3 Clusteranalyse

Der Anteil mittels FAME-GC nicht identifizierbarer Bakterienisolate betrug in den Jahren 2001 und 2002 bis zu 11 % (Tab. 3). In der Phyllosphäre war in beiden Jahren vor allem im Stadium der Blüte ein hoher Anteil unbekannter Isolate von 10 % (2001) bzw. 11 % (2002) zu beobachten. In der Rhizosphäre lag der prozentuale Anteil nicht zu identifizierender Bakterienisolate über die gesamte Vegetationsperiode 2002 zwischen 9 % (EC 80) und 11 % (EC 20). In der Endorhiza waren besonders zu Beginn der Vegetationsperiode erhöhte Anteile nicht identifizierbarer Bakterienisolate von 11 % (2001) bzw. 8 % (2002) zu beobachten. In der Endosphäre war der Anteil unbekannter Isolate am geringsten. Mit Ausnahme von EC 20 in 2002 (0 %) lag der prozentuale Anteil zwischen 4 % (EC 80, 2002) und 7 % (EC 60, 2001).

**Tab. 3:** Prozentualer Anteil mittels FAME-GC nicht identifizierbarer Bakterienisolate in Abhängigkeit von Habitat, Vegetationsperiode und Probennahmetermin

EC-Stadium	2001			2002		
	EC 20 <sup>a</sup>	EC 60 <sup>b</sup>	EC 80 <sup>c</sup>	EC 20 <sup>a</sup>	EC 60 <sup>b</sup>	EC 80 <sup>c</sup>
<b>Rhizosphäre</b>	8	6	8	11	10	9
<b>Phyllosphäre</b>	8	10	6	3	11	8
<b>Endorhiza</b>	11	4	1	8	4	4
<b>Endosphäre</b>	6	7	5	0	5	4

Entwicklungsstadien: <sup>a</sup> EC 20=Jugend, <sup>b</sup> EC 60=Blüte, <sup>c</sup> EC 80=Reife

Für die Charakterisierung der Bakterienpopulationen und die Berechnung der verschiedenen Diversitätsindices war es notwendig, die unbekannten Isolate zu gruppieren und in Klassen einzuordnen. Insgesamt wurden 515 unbekannte Isolate mit Hilfe der Hierarchischen Clusteranalyse klassifiziert (Tab. 4).

Die Klassifizierung beruhte auf den prozentualen Anteilen und den Mustern folgender 18 häufig auftretender, gesättigter Fettsäuren:

12:0 ISO, 12:0, 13:0 ISO, 13:0, 14:0 ISO, 14:0, 15:0 ISO, 15:0 ANTEISO, 15:0, 16:0 ISO, 16:0, 17:0 ISO, 17:0 ANTEISO, 17:0, 18:0 ISO, 18:0, 19:0, 20:0

Die erste Zahl entspricht hierbei der Anzahl der Kohlenstoffatome, die zweite entspricht der Anzahl Doppelbindungen im Fettsäuremolekül. Die Bezeichnungen ISO und ANTEISO kennzeichnen die Lage der Seitenketten im Molekül.

Zunächst wurde mit Hilfe dieser Fettsäuren ein Referenzcluster mit bekannten und eindeutig identifizierten Bakterienarten erstellt und als Standard für die zu untersuchenden Isolate festgelegt. Aufgrund begrenzter Kapazitäten der Software wurden die Clusteranalysen jeweils für ein Erntejahr durchgeführt. Somit konnten die Veränderungen in der Häufigkeit der unbekannten Gattungen jeweils in Abhängigkeit des Habitats und des Verlaufs der Vegetationsperiode beobachtet werden.

**Tab. 4:** Zuordnung der nicht identifizierbaren Isolate auf die mittels Hierarchischer Clusteranalyse ermittelten unbekannten Gattungen (A-AF) in Abhängigkeit von Habitat, Probennahmetermin und Vegetationsperiode. Die Buchstaben der Gattung beziehen sich jeweils auf ein Jahr.

	2001												2002											
	EC 20 <sup>1)</sup>				EC 60				EC 80				EC 20				EC 60				EC 80			
	R <sup>2)</sup>	P	RE	PE	R	P	RE	PE	R	P	RE	PE	R	P	RE	PE	R	P	RE	PE	R	P	RE	PE
A	4	3	4	2	9	3	4	24	16	16	3	16	3	1			3	1			9	1		
B	1				1				2				1								1			
C									1				3	2			7	1	1		3	1	1	
D	1						1					2		1										
E						1							1											
F			1																		1			
G										1			3				1	1				1		
H		1	2										1				1				2			
I		1	2										1						1					
J			2														1							
K		8						1													1			
L						3							2								1			
M	2								1								3				1			
N	1								1								3				4			
O		1	1														1	3				1	1	
P	1	4	4					1					1				1	1	1	1				
Q	3	3	5	1	4		1	2	13				2	1	4		2	4	1	4	1	11	1	8
R		1				1	1							1										
S						1			1				1				2				8		1	
T						1							1				1				1	1		
U						1									1									
V								1				1					1							
W		6	2		4	5	1	1				25									1			
X		1				2						1					1	1						
Y	2				5	3		1	3	20		11									3			
Z										1				3			3				1			
AA		1	1	1	2	1	2	4							3		1	1					1	
AB										1							3		1		3		2	
AC					1								3	3			4	3	2	6	2	15	2	3
AD					1					2							1							
AE						1		1																
AF				1																				
Σ	15	30	24	5	27	23	10	36	38	41	3	56	23	3	14	0	27	28	6	13	37	36	8	12

<sup>1)</sup> Entwicklungsstadien: EC 20=Jugend, EC 60=Blüte, EC 80=Reife

<sup>2)</sup> Habitate: R=Rhizosphäre, P=Phyllosphäre, RE=Endorhiza, PE=Endosphäre

## 2.3.4 Charakterisierung der Bakterienpopulationen

### 2.3.4.1 Gesamtspektrum der Gattungen im Jahresvergleich

In den beiden Versuchsjahren ergab sich bezüglich des Auftretens der Bakteriengattungen ein ähnliches Bild (Tab. 5). Ungeachtet von Habitat und Probennahmetermin dominierten Bakterien der Gattung *Pseudomonas* und *Bacillus*. Der Anteil an *Pseudomonas* und *Bacillus* betrug jeweils 13 % (2001) bzw. 19 % (2002). Der Anteil der restlichen Bakteriengattungen schwankte in den Jahren zwischen 1 % und 6 %. Fast alle Gattungen traten in beiden Jahren auf, doch variierte ihr Anteil am Gesamtspektrum zwischen den beiden Jahren teilweise beachtlich. Neben *Pseudomonas* und *Bacillus* traten weitere dominante Gattungen mit einem Anteil von  $\geq 4$  % am Gesamtspektrum auf. In 2001 waren dies die Gattungen *Agrobacterium* (6 %), *Arthrobacter* (5 %), *Micrococcus* (5%) und *Stenotrophomonas* (5 %), im Jahr 2002 die Gattungen *Micrococcus*, *Curtobacterium* und *Arthrobacter* mit jeweils 4 %.

Unter den Bakteriengattungen mit einem Anteil  $< 4$  % am Gesamtspektrum gab es einige, die in beiden Jahren auftraten und einige, die nur in einem der beiden Jahre auftraten (Tab. 5). In beiden Jahren waren elf Bakteriengattungen vertreten: *Pantoea* mit jeweils 2 %, *Clavibacter* mit 3 % (2001) bzw. 1 % (2002), *Cellulomonas* und *Flavobacterium* mit jeweils 2 % in 2001 und 1 % in 2002, *Sphingobacterium* und *Streptomyces* mit jeweils 1 % in 2001 und 3 % in 2002, *Methylobacterium*, *Staphylococcus* und *Variovorax* mit 1 % (2001) bzw. 2 % (2002) und *Aureobacterium* und *Paenibacillus* mit jeweils 1 % Anteil am Bakterienspektrum. Insgesamt acht Bakteriengattungen traten nur im Jahr 2001 auf, 14 nur im Jahr 2002. Für 2001 waren dies auf die unbekannten Bakteriengattungen W und Y mit 3 %, *Cedecea* und *Erwinia* mit jeweils 2 % und *Brevibacterium*, *Chryseobacterium*, *Paracoccus*, K und AA mit je 1 %. Nur in 2002 traten die Bakteriengattungen AC mit 3 %, *Cytophaga* mit 2 % und *Enterobacter*, *Nocardia*, *Rhodobacter*, *Rhodococcus*, *Serratia*, *Xanthobacter*, *Yersinia* sowie die unbekannten Bakteriengattungen C, M, S, Z und AB mit jeweils 1 % auf.

**Tab. 5:** Prozentualer Anteil der Gattungen am gesamten Bakterienspektrum der Jahre 2001 und 2002

<b>Gattung</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>
<i>Agrobacterium</i>	6	1
<i>Arthrobacter</i>	5	4
<i>Aureobacterium</i>	1	1
<i>Bacillus</i>	13	19
<i>Brevibacterium</i>	1	
<i>Cedecea</i>	2	
<i>Cellulomonas</i>	2	1
<i>Chryseobacterium</i>	1	
<i>Clavibacter</i>	3	1
<i>Curtobacterium</i>	4	4
<i>Cytophaga</i>		2
<i>Enterobacter</i>		1
<i>Erwinia</i>	2	
<i>Flavobacterium</i>	2	1
<i>Methylobacterium</i>	1	2
<i>Micrococcus</i>	5	4
<i>Nocardia</i>		1
<i>Paenibacillus</i>	1	1
<i>Pantoea</i>	2	2
<i>Paracoccus</i>	1	
<i>Pseudomonas</i>	13	19
<i>Rhodobacter</i>		1
<i>Rhodococcus</i>		1
<i>Serratia</i>		1
<i>Sphingobacterium</i>	1	3
<i>Staphylococcus</i>	1	2
<i>Stenotrophomonas</i>	5	2
<i>Streptomyces</i>	1	3
<i>Variovorax</i>	1	2
<i>Xanthobacter</i>		1
<i>Yersinia</i>		1
<b>A</b>	8	1
<b>C</b>		1
<b>K</b>	1	
<b>M</b>		1
<b>P</b>	1	
<b>Q</b>	2	3
<b>S</b>		1
<b>W</b>	3	
<b>Y</b>	3	
<b>Z</b>		1
<b>AA</b>	1	
<b>AB</b>		1
<b>AC</b>		3

### 2.3.4.2 Veränderung des Bakterienspektrums im Laufe der Vegetationsperiode

Mit Ausnahme der Gattung *Agrobacterium* und der unbekannten Gattung A im Jahre 2001 traten alle dominanten Bakteriengattungen, die eine Abundanz am Gesamtspektrum von mehr als 4 % zeigten, sowohl in 2001 als auch in 2002 auf (Tab. 6). Im Laufe der Vegetationsperiode zeigten sich bei diesen Gattungen jedoch starke Unterschiede in der Häufigkeit ihres Auftretens zu den verschiedenen Probennahmeterminen. In der Jugendentwicklung zeigten *Bacillus*-Arten eine sehr starke Dominanz, die aber im Laufe der Vegetationsperiode abnahm. Im Jahre 2001 war diese Abnahme mit 91 % deutlich gravierender als in 2002 mit 63 %. Eine ähnliche Tendenz zeigte auch die ausschließlich in 2001 auftretende Gattung *Agrobacterium*. Im Gegensatz dazu konnte man bei der Gattung *Curtobacterium* sowie der nur in 2001 auftretenden unbekannten Gattung A einen Anstieg der Häufigkeit von der Jugend bis zur Reife beobachten. Weiterhin gab es einige Gattungen, die ihre höchste Abundanz zum Zeitpunkt der Blüte erreichten, wie z.B. *Pseudomonas* und *Arthrobacter*. Die Abundanzen der Gattungen *Stenotrophomonas* und *Micrococcus* zeigten in keinem der beiden Jahre ein einheitliches Muster. Im Jahre 2001 stieg die Häufigkeit der Gattung *Stenotrophomonas* bis zu ihrem Maximum gegen Ende der Vegetationsperiode an, während sie im Jahre 2002 von der Jugendphase bis zur Reife absank. *Micrococcus* hingegen zeigte zum Zeitpunkt der Blüte ein Minimum an Isolat in 2001 und ein Maximum in 2002.

**Tab. 6:** Anzahl der Isolate dominanter Bakteriengattungen > 4 % am Gesamtspektrum in Abhängigkeit von Vegetationsperiode und Probennahmetermin

EC-Stadium	2001			2002		
	EC 20 <sup>a</sup>	EC 60 <sup>b</sup>	EC 80 <sup>c</sup>	EC 20 <sup>a</sup>	EC 60 <sup>b</sup>	EC 80 <sup>c</sup>
<b><i>Agrobacterium</i></b>	40	26	16	-	-	-
<b><i>Arthrobacter</i></b>	33	37	1	10	21	18
<b><i>Bacillus</i></b>	89	79	8	128	80	48
<b><i>Curtobacterium</i></b>	5	12	36	1	6	53
<b><i>Micrococcus</i></b>	30	16	25	17	28	15
<b><i>Pseudomonas</i></b>	11	114	60	13	131	113
<b><i>Stenotrophomonas</i></b>	8	24	40	12	12	5
<b>A</b>	13	40	51	-	-	-

Entwicklungsstadien: <sup>a</sup> EC 20=Jugend, <sup>b</sup> EC 60=Blüte, <sup>c</sup> EC 80=Reife

#### **2.3.4.3 Unterschiede in der Abundanz der Bakteriengattungen in Abhängigkeit von Pflanzenhabitat und Vegetationsperiode**

Das Bakterienspektrum der Kartoffeln zeigte nicht nur zwischen den Probennahmeterminen, sondern vor allem auch zwischen den einzelnen Habitaten sehr deutliche Unterschiede. Tabelle 7 zeigt die prozentuale Verteilung der Isolate auf die Gattungen in den jeweiligen Mikrohabitaten. In der Rhizosphäre dominierten in beiden Jahren die Gattungen *Bacillus* (8 % bzw. 13 %) und *Pseudomonas* (9 % bzw. 11 %). Weiterhin häufig vertreten war noch die unbekannte Gattung A mit 8 % im Jahr 2001 und die Gattung *Stenotrophomonas* mit 7 % im Jahr 2002. In der Phyllosphäre fielen die meisten Isolate auf die Gattung *Bacillus* (24 % in 2001 und 40 % in 2002). Der Anteil Bakterienisolate der Gattung *Pseudomonas* betrug 4 % in 2001 und 11 % in 2002. Auch in der Endorhiza dominierten die Gattungen *Bacillus* und *Pseudomonas*. Ihr Anteil am Bakterienspektrum der Jahre 2001 und 2002 betrug 8 % und 11 % bzw. 33 % und 46 %. Im Jahre 2001 waren in der Endorhiza außerdem *Agrobacterium* (10 %) und *Stenotrophomonas* (12 %) häufig vertreten. In der Endosphäre lag der Anteil der Gattung *Agrobacterium* am gesamten Bakterienspektrum im Jahr 2001 bei 11 % und der von *Bacillus* in den Jahren 2001 bzw. 2002 bei 10 % bzw. 8 %. Die Arten der Gattung *Curtobacterium* erreichten in den Jahren 2001 und 2002 jeweils einen Anteil von 12 % bzw. 21 % am gesamten Bakterienspektrum. Im Jahr 2001 fand man außerdem noch hohe Anteile der nicht identifizierbaren Gattungen A (13 %) und W (8 %). Im Jahr 2002 waren zusätzlich die Gattungen *Methylobacterium* (8 %) und *Micrococcus* (16 %) sehr stark in der Endosphäre vertreten.

Der Anteil der Bakteriengattungen der Endorhiza an der Rhizosphäre sowie der Anteil der Gattungen der Endosphäre an der Phyllosphäre lag jeweils zwischen 53 % und 54 % (Tab. 7). Abbildung 2 zeigt die Bakteriengattungen, die in beiden Jahren mit mindestens einem Prozent in den jeweiligen Habitaten auftraten. Die gemeinsamen Bakteriengattungen der unterirdischen Habitate Rhizosphäre und Endorhiza waren *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Aureobacterium*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Micrococcus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas* und *Variovorax*. Die gemeinsamen Bakteriengattungen der oberirdischen Habitate Phyllosphäre und Endosphäre waren *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Curtobacterium*, *Methylobacterium*, *Micrococcus*, *Pantoea*, *Pseudomonas* und *Staphylococcus*.

**Tab. 7:** Prozentuale Verteilung der Bakterienisolate in Abhängigkeit des Mikrohabitats in den Jahren 2001 und 2002 (0 bedeutet einen prozentualen Anteil von < 0,5 %)

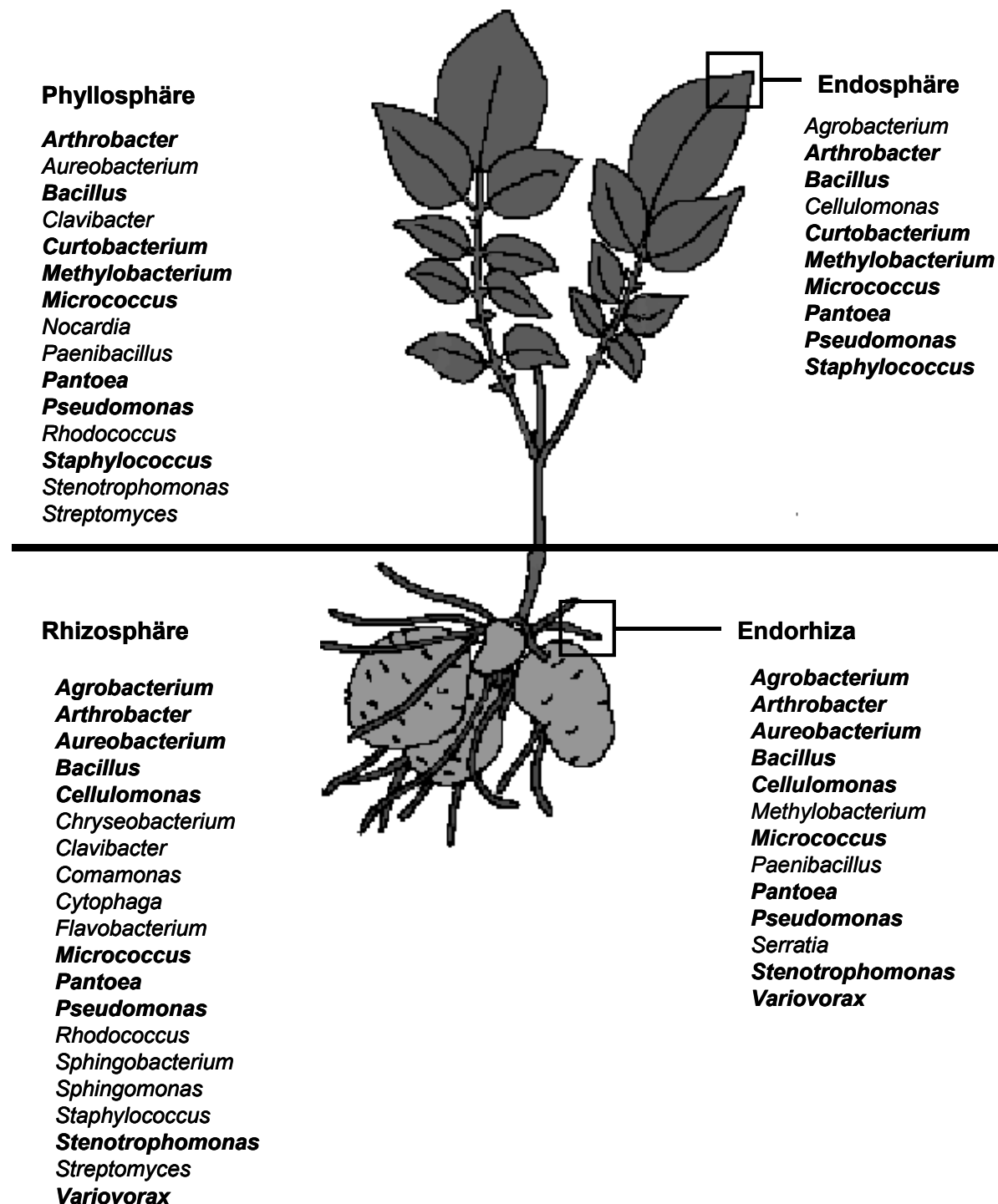
Gattung	2001				2002			
	R <sup>1)</sup>	P	RE	PE	R	P	RE	PE
<i>Acidovorax</i>	0				0			
<i>Acinetobacter</i>				0				
<i>Agrobacterium</i>	3		10	11	1	0	2	
<i>Alcaligenes</i>			0		1		1	
<i>Arthrobacter</i>	6	9	4	1	6	4	3	2
<i>Aureobacterium</i>	2	1	1	0	3	1	1	0
<i>Bacillus</i>	8	24	8	10	13	40	11	8
<i>Bradyrhizobium</i>			0					
<i>Brevibacterium</i>	1	1		1	0	0		0
<i>Brevundimonas</i>	1	0		0				
<i>Burkholderia</i>	0	0						
<i>Cedecea</i>		3		5				
<i>Cellulomonas</i>	2	3	2	3	1	1	1	2
<i>Chryseobacterium</i>	1	1	0		1			
<i>Citrobacter</i>					0			0
<i>Clavibacter</i>	1	6	0	4	1	2		0
<i>Comamonas</i>	1				1			
<i>Corynebacterium</i>	1	0	1			1		
<i>Curtobacterium</i>	0	4	0	12	0	4		21
<i>Cytophaga</i>	1	0			4	1	1	
<i>Deinococcus</i>						0		
<i>Enterobacter</i>	0				0		3	
<i>Enterococcus</i>						0		0
<i>Erwinia</i>	2		2	3	0		0	
<i>Flavobacterium</i>	6		1		2	0		
<i>Janthinobacterium</i>				0				1
<i>Klyuvera</i>							1	0
<i>Kurthia</i>		0					0	
<i>Lactobacillus</i>	0	0		0				
<i>Methylobacterium</i>		1	2	2		1	1	8
<i>Microbacterium</i>			0					
<i>Micrococcus</i>	5	6	5	4	3	2	2	16
<i>Micromonospora</i>						0		
<i>Moraxella</i>								2
<i>Nocardia</i>		1			0	1	1	1
<i>Nocardiodides</i>			1	0	0			
<i>Nocardiopsis</i>					0			
<i>Ochrobactum</i>						0		
<i>Oerskovia</i>			0					
<i>Paenibacillus</i>	2	2	1			2	1	1
<i>Pantoea</i>	2	1	2	2	1	1	4	7
<i>Paracoccus</i>	2		1					
<i>Pedicoccus</i>	0							
<i>Phyllobacterium</i>							1	
<i>Pseudomonas</i>	9	4	33	7	11	11	46	5
<i>Rhanella</i>								0
<i>Rhodobacter</i>	0			0		0		4
<i>Rhodococcus</i>	1	1		0	1	3	1	

Fortsetzung **Tab. 7**

<i>Gattung</i>	2001				2002			
	<i>R</i> <sup>1)</sup>	<i>P</i>	<i>RE</i>	<i>PE</i>	<i>R</i>	<i>P</i>	<i>RE</i>	<i>PE</i>
<i>Serratia</i>		0	1		0		2	
<i>Sphingobacterium</i>	4		1		9	1	0	
<i>Sphingomonas</i>	1			1	1		0	
<i>Staphylococcus</i>	1	1		1	2	1	1	6
<i>Stenotrophomonas</i>	7	1	12	0	4	1	3	0
<i>Streptomyces</i>	1	2	0		9	1	2	0
<i>Variovorax</i>	4	0	1		4	0	4	
<i>Xanthobacter</i>	1				0	0	1	0
<i>Yersinia</i>					1	3		0
<i>A</i>	8	6	3	13	4	1		
<i>B</i>	1				1			
<i>C</i>	0				2	2	1	0
<i>D</i>	0		0	1			0	
<i>E</i>		0			0			
<i>F</i>			0		0			
<i>G</i>		0	0		1	1		
<i>H</i>		0	1		1	0		
<i>I</i>		0	1		0			0
<i>J</i>			1			0		
<i>K</i>		2		0	0			
<i>L</i>		1			1			
<i>M</i>	1				2			
<i>N</i>	1				1			
<i>O</i>		0	0		0	1	0	
<i>P</i>	0	1	1	0	1	0	0	0
<i>Q</i>	6	1	2	1	1	4	2	5
<i>R</i>		1	0			0		
<i>S</i>	0	0			3		0	
<i>T</i>		0			1	0		
<i>U</i>		0					0	
<i>V</i>				1		0		
<i>W</i>	1	3	1	8		0		
<i>X</i>		1		0	0	0		
<i>Y</i>	3	7		4		1		
<i>Z</i>		0				1	1	
<i>AA</i>	1	1	1	2	0	0		0
<i>AB</i>		0			2		1	
<i>AC</i>	0				2	5	2	4
<i>AD</i>	0	1			0			
<i>AE</i>		0		0				
<i>AF</i>				0				

<sup>1)</sup> Habitate: R=Rhizosphäre, P=Phyllosphäre, RE=Endorhiza und PE=Endosphäre





**Abb. 2:** Übersicht über die Bakteriengattungen der oberirdischen Habitate Phyllosphäre und Endosphäre und der unterirdischen Habitate Rhizosphäre und Endorhiza mit einem Anteil von mindestens einem Prozent am gesamten Bakterienspektrum in 2001 und 2002. Die gemeinsamen Gattungen sind fett gedruckt.

#### **2.3.4.4 Veränderung der Abundanz der Bakteriengattungen in Abhängigkeit von Pflanzenhabitat, Vegetationsverlauf und Vegetationsperiode**

Die absoluten (Tab. 8) und relativen (Tab. 9) Abundanzen der vorherrschenden Bakteriengattungen *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Curtobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces* (2002) sowie der unbekannten Gattung A (2001) zeigten in Abhängigkeit von Vegetationsperiode, Probennahmetermin und Mikrohabitat teils große Schwankungen.

Von den dominanten Bakteriengattungen zeigten *Agrobacterium* in 2001 und *Bacillus* in 2001 und 2002 die höchste Abundanz zu Beginn der Vegetationsperiode. Die meisten *Agrobacterium*-Isolate wurden in 2001 aus den inneren Geweben der Pflanze isoliert. Im Jugendstadium wurden 35 Isolate (88 %) in der Endosphäre gefunden, zur Blüte und zur Reife traten je 81 % der Isolate in der Endorhiza auf. Im Jahr 2002 war der Anteil der *Agrobacterium*-Isolate im Jugend- und Reifestadium geringer (25 % bzw. 33 %) und der größte Teil (80 %) trat zum Zeitpunkt der Blüte auf. Mit Ausnahme des Jugendstadiums stammten alle *Agrobacterium*-Isolate aus der Rhizosphäre und Endorhiza. Die Gattung *Bacillus* wurde in beiden Jahren (Ausnahme Jugendstadium EC 20) hauptsächlich aus der Rhizosphäre und Phyllosphäre isoliert. Die höchsten Abundanzen waren zu Beginn der Vegetationsperiode mit 60 % (2001) bzw. 73 % (2002) der *Bacillus*-Isolate in der Phyllosphäre zu beobachten. Im Laufe der Vegetationsperiode fiel die Anzahl der *Bacillus*-Isolate in beiden Jahren ab. In der Phyllosphäre sank die Anzahl von 53 auf 6 (2001) bzw. von 93 auf 16 Isolate (2002) ab. In der Endorhiza lagen die Abundanzen dieser Gattung im Jugendstadium bei 26 % bzw. 17 %, in der Blüte bei 9 % bzw. 11 % und waren zur Reife nicht mehr nachweisbar. In der Endosphäre kehrte sich dieses Verhältnis um. Während sich hier zu Beginn der Vegetationsperiode nur 2 % bzw. 3 % der *Bacillus*-Arten befanden, stieg deren Anteil zur Blüte auf ein Maximum von 30 % bzw. 11 % an.

Bakteriengattungen, die ihre maximale Abundanz im Stadium der Blüte erreichten, waren *Arthrobacter* und *Pseudomonas* (Tab. 8). *Arthrobacter*-Isolate waren hauptsächlich in der Rhizo- und Phyllosphäre vertreten, kamen in der Endorhiza und Endosphäre dagegen nur vereinzelt vor. Die Isolate der Bakteriengattung *Pseudomonas* traten im Jugendstadium hauptsächlich in der Rhizo- bzw. Phyllosphäre auf, ab dem Zeitpunkt der Blüte, mit Ausnahme des Blütestadiums in 2002, hauptsächlich in der Rhizosphäre und der Endorhiza. Im Laufe der Vegetationsperiode stieg der Anteil an *Pseudomonas*-Isolaten in der Endorhiza auf 60–70 % an. Der Anteil der Isolate in der Rhizosphäre sank dagegen bis zum Zeitpunkt der Blüte in 2001 von 82 % auf 10 % und in 2002 von 100 % auf 9 % ab. Zur Reife hin erfolgte ein Anstieg auf 22 % (2001) bzw. 18 % (2002) in diesem Habitat. Der Anteil der

*Pseudomonas*-Isolate an der Phyllosphäre sank in 2001 von 18 % auf 8 % ab. Im Jahr 2002 waren im Jugendstadium keine *Pseudomonas*-Isolate in der Phyllosphäre nachweisbar, zur Blüte machte der Anteil 25 % aus und sank zur Reife ähnlich wie in 2001 auf 6 % ab. In der Endosphäre konnte in 2001 zur Blüte und zur Reife ein Anteil von jeweils 12 % beobachtet werden, während er in 2002 nur noch bei 6 % bzw. 3 % lag.

Die Anzahl der Isolate der Gattung *Curtobacterium* stieg im Vegetationsverlauf des Jahres 2001 von 5 auf 36 Isolate, in 2002 von 1 auf 53 Isolate an (Tab. 8). Die maximale Abundanz der Isolate der Gattung *Curtobacterium* wurde zum Stadium der Reife erreicht. Zu Beginn der Vegetationsperiode konnten die *Curtobacterium*-Isolate nur außerhalb der Pflanze lokalisiert werden und erreichten in der Phyllosphäre einen Anteil von 80 % (2001) bzw. 100 % (2002) (Tab. 9). Im Laufe der Vegetationsperiode sank die Anzahl der Isolate in der Phyllosphäre bis zur Reife auf 19 % bzw. 21 %, während in der Endosphäre die Abundanzen auf ein Maximum anstiegen. Sowohl in 2001 als auch in 2002 war der größte Teil der Gattung *Curtobacterium* in der Endosphäre lokalisiert und erreichte in der Blüte jeweils 67 % und in der Reife 81 % (2001) bzw. 79 % (2002). In der Rhizosphäre und Endorhiza war die Gattung *Curtobacterium* kaum bis gar nicht anzutreffen.

Die Anzahl der Isolate der Gattung *A* stieg in 2001 im Laufe der Vegetationsperiode von 13 auf 51 an. Zur Blüte traten über 50 % der Gattung *A* in der Endosphäre auf. Demgegenüber verteilte sich die Gattung *A* zur Reife mit jeweils 30 % auf die Habitate Endosphäre, Rhizosphäre und Phyllosphäre. In der Endorhiza lag die Anzahl der Isolate zwischen 6 % (Reife) und 30 % (Jugend).

Bei den Bakteriengattungen *Micrococcus* und *Stenotrophomonas* konnten große Unterschiede in der Abundanz zwischen den beiden Vegetationsperioden beobachtet werden. Die Gattung *Micrococcus* war in 2001 mit 30 Isolaten am stärksten im Jugendstadium vertreten, während in 2002 das Maximum an Isolaten in der Blüte zu finden war. Sowohl in 2001 als auch in 2002 verteilten sich die meisten *Micrococcus*-Isolate in der Jugend auf die Rhizosphäre und Endorhiza. In der Blüte konnten keine Isolate mehr aus der Endorhiza isoliert werden. Dafür stieg der Anteil der Isolate in der Endosphäre stark an, in 2001 auf 25 % und in 2002 auf 86 %. Auch zur Reife trat der maximale Anteil der Isolate in der Endosphäre auf und betrug 36 % in 2001 bzw. 47 % in 2002.

Die Anzahl *Stenotrophomonas*-Isolate lag in 2001 bei 72 Isolaten und in 2002 deutlich geringer bei 29 Isolaten (Tab. 8). Im Jahr 2001 stieg die Anzahl der *Stenotrophomonas*-Isolate von 8 in der Jugendphase auf 40 in der Reife an. Im Jugendstadium trat *Stenotrophomonas* nur in der Rhizosphäre auf. Im Laufe der Vegetationsperiode fand man *Stenotrophomonas* zusätzlich auch in der Phyllosphäre und Endorhiza. Zur Reife lag der Anteil der Isolate in der Endorhiza bei 34 (85 %) und in der Rhizosphäre bei 5 (13 %). In 2002 lag die Anzahl der Isolate im Jugendstadium und in der Blüte bei 12 und zur Reife bei 5. Wie in 2001 wurden auch in 2002 *Stenotrophomonas*-Isolate hauptsächlich in der Rhizosphäre und in der Endorhiza gefunden. Der Anteil der Isolate an der Phyllosphäre blieb mit Ausnahme der Blüte in 2001 (17 %) und der Reife 2002 (20 %) in beiden Jahren unter 10 % (Tab. 9). Der Anteil der Isolate an der Endosphäre lag mit Ausnahme des Jugendstadiums in 2002 (8 %) zwischen 0 % (Blüte, Reife 2002) und 3 % (Reife 2002). Eine vollständige Auflistung der Gattungen über die beiden Jahre, drei Probennahmetermine und vier Habitate findet sich im Anhang I.

Neben den bisher genannten Bakteriengattungen traten weitere Gattungen an bestimmten Probennahmeterminen bzw. in bestimmten Habitaten hervor (Anhang I). So wurde die Gattung *Cedecea* nur in der Jugendphase des Jahres 2001 aus der Phyllosphäre (8 Isolate) und der Endosphäre (17 Isolate) isoliert. Die Gattung *Clavibacter* fiel im Jahre 2001 gegen Ende der Vegetation durch ihre hohe Abundanz in der Phyllosphäre und Endosphäre mit einem Anteil von 14 % bzw. 5 % am gesamten Bakterienspektrum auf. Isolate der Gattung *Enterobacter* wurden nur in 2002 zum Zeitpunkt der Reife aus der Endorhiza (8 %) isoliert. Die Gattungen *Methylobacterium* und *Rhodobacter* dominierten die Endosphäre zum Zeitpunkt der Blüte im Jahr 2002 mit 42 % bzw. 22 %. Bei der Bakteriengattung *Pantoea* war ein erhöhter prozentualer Anteil am Gesamtspektrum der endophytischen Habitate zu beobachten. Im Jahr 2001 waren im Jugendstadium erhöhte Anteile von *Pantoea*-Isolaten in der Endosphäre (6 %), im Reifestadium in der Endorhiza (5 %) zu beobachten. Im Jahr 2002 war der Anteil der Isolate zum Zeitpunkt der Blüte erhöht und lag bei 9 % in der Endorhiza bzw. 10 % in der Endosphäre. *Sphingobacterium* und *Streptomyces* fielen vor allem im Jahr 2002 durch ihre erhöhte Zahl von Isolaten in der Rhizosphäre auf. Die prozentualen Anteile lagen bei *Streptomyces* während der gesamten Vegetationsperiode zwischen 8 % und 11 %, bei *Sphingobacterium* zwischen 6 % und 10 %.

**Tab.8:** Anzahl der Bakterienisolate der dominanten Bakteriengattungen in den jeweiligen Mikrohabitaten in Abhängigkeit von Probennahmetermin und Vegetationsperiode

2001	EC 20 <sup>1)</sup>					EC 60					EC 80				
	R <sup>2)</sup>	P	RE	PE	Σ	R	P	RE	PE	Σ	R	P	RE	PE	Σ
<i>Agrobacterium</i>	2		3	35	<b>40</b>	5		21		<b>26</b>	3		13		<b>16</b>
<i>Arthrobacter</i>	9	12	12		<b>33</b>	13	19	3	2	<b>37</b>		1			<b>1</b>
<i>Bacillus</i>	11	53	23	2	<b>89</b>	16	26	7	30	<b>79</b>	2	6			<b>8</b>
<i>Curtobacterium</i>	1	4			<b>5</b>		3	1	8	<b>12</b>		7		29	<b>36</b>
<i>Micrococcus</i>	10	5	14	1	<b>30</b>	4	8		4	<b>16</b>	3	8	5	9	<b>25</b>
<i>Pseudomonas</i>	9	2			<b>11</b>	11	8	81	14	<b>114</b>	13	5	35	7	<b>60</b>
<i>Stenotrophomonas</i>	8				<b>8</b>	11	4	9		<b>24</b>	5		34	1	<b>40</b>
<b>A</b>	4	3	4	2	<b>13</b>	9	3	4	24	<b>40</b>	16	16	3	16	<b>51</b>

2002	EC 20 <sup>1)</sup>					EC 60					EC 80				
	R <sup>2)</sup>	P	RE	PE	Σ	R	P	RE	PE	Σ	R	P	RE	PE	Σ
<i>Agrobacterium</i>	2	1	1		<b>4</b>	1		4		<b>5</b>	2		1		<b>3</b>
<i>Arthrobacter</i>	7		3		<b>10</b>	11	3	5	2	<b>21</b>	4	10	2	2	<b>18</b>
<i>Bacillus</i>	10	93	22	3	<b>128</b>	20	40	9	11	<b>80</b>	22	16	7	3	<b>48</b>
<i>Curtobacterium</i>		1			<b>1</b>	1	1		4	<b>6</b>		11		42	<b>53</b>
<i>Micrococcus</i>	6	2	5	4	<b>17</b>	1	1	2	24	<b>28</b>	4	4		7	<b>15</b>
<i>Pseudomonas</i>	13				<b>13</b>	12	33	78	8	<b>131</b>	20	7	83	3	<b>113</b>
<i>Stenotrophomonas</i>	6	1	4	1	<b>12</b>	9		3		<b>12</b>	2	1	2		<b>5</b>

**Tab. 9:** Prozentualer Anteil der Bakterienisolate an den dominanten Bakteriengattungen in den jeweiligen Mikrohabitaten in Abhängigkeit von Probennahmetermin und Vegetationsperiode

2001	EC 20 <sup>1)</sup>				EC 60				EC 80			
	R <sup>2)</sup>	P	RE	PE	R	P	RE	PE	R	P	RE	PE
<i>Agrobacterium</i>	5		8	88	19		81		19		81	
<i>Arthrobacter</i>	27	36	36		35	51	8	5		100		
<i>Bacillus</i>	12	60	26	2	20	33	9	38	25	75		
<i>Curtobacterium</i>	20	80				25	8	67		19		81
<i>Micrococcus</i>	33	17	47	3	25	50		25	12	32	20	36
<i>Pseudomonas</i>	82	18			10	7	71	12	22	8	58	12
<i>Stenotrophomonas</i>	100				46	17	38		13		85	3
<b>A</b>	31	23	31	15	23	8	10	60	31	31	6	31

2002	EC 20 <sup>1)</sup>				EC 60				EC 80			
	R <sup>2)</sup>	P	RE	PE	R	P	RE	PE	R	P	RE	PE
<i>Agrobacterium</i>	50	25	25		20		80		67		33	
<i>Arthrobacter</i>	70		30		52	14	24	10		56		11
<i>Bacillus</i>	8	73	17	2	25	50	11	14	46	33		6
<i>Curtobacterium</i>		100				17		67		21		79
<i>Micrococcus</i>	35	12	29	24	4	4		86	27	27		47
<i>Pseudomonas</i>	100				9	25	60	6	18	6	73	3
<i>Stenotrophomonas</i>	50	8	34	8	75		25		40	20	40	

<sup>1)</sup> Entwicklungsstadien: EC 20=Jugend, EC 60=Blüte, EC 80=Reife<sup>2)</sup> Habitate: R=Rhizosphäre, P=Phyllosphäre, RE=Endorhiza und PE=Endosphäre

### 2.3.4.5 Diversitätsindices für Gattungsreichtum, Diversität und Abundanz der Bakterien in den verschiedenen Mikrohabitaten der Kartoffel

Die Diversität der Bakterienpopulationen wurde mit Hilfe von Indices nach LUDWIG und REYNOLDS [1988] in Abhängigkeit von Habitat, Probennahmetermin und Vegetationsperiode berechnet (Tab. 10). Hierdurch war es möglich, Populationsstrukturen von Bakterien unter verschiedenen Voraussetzungen miteinander zu vergleichen. Es wurden Indices zum Gattungsreichtum (richness), zur Diversität (diversity) und zur Gleichmäßigkeit der Verteilung der Individuen auf die Gattungen (evenness) berechnet.

**Tab. 10:** Übersicht der berechneten Indices zur Bestimmung des Gattungsreichtums (richness), der Diversität (diversity) und der Verteilung (evenness) der Bakterienisolate in Abhängigkeit von Vegetationsperiode, Probennahmetermin und Mikrohabitat

EC 20 <sup>1)</sup>					EC 60				EC 80			
Index 2001	R <sup>2)</sup>	P	RE	PE	R	P	RE	PE	R	P	RE	PE
Anzahl Isolate (N)	119	132	92	68	132	119	144	127	107	101	118	119
<b>Gattungsreichtum (richness)</b>												
Anzahl Gattungen S	33	25	26	11	32	32	18	26	28	25	17	18
R1	6,70	4,92	5,53	2,37	6,35	6,49	3,42	5,16	5,78	5,20	3,35	3,56
<b>Diversität (diversity)</b>												
λ	0,04	0,18	0,11	0,33	0,05	0,09	0,34	0,11	0,07	0,10	0,19	0,14
H'	3,19	2,39	2,62	1,51	3,09	2,91	1,68	2,55	2,85	2,54	2,06	2,24
N1	24,4	11,0	13,7	4,5	22,1	18,4	5,3	12,8	17,3	12,6	7,8	9,4
N2	23,4	5,5	9,4	3,1	19,4	11,4	2,9	8,8	14,0	10,2	5,4	7,3
<b>Verteilung (evenness)</b>												
E5	0,96	0,46	0,66	0,59	0,87	0,60	0,44	0,66	0,80	0,79	0,64	0,75

EC 20 <sup>1)</sup>					EC 60				EC 80			
Index 2002	R <sup>2)</sup>	P	RE	PE	R	P	RE	PE	R	P	RE	PE
Anzahl Isolate (N)	117	119	72	36	145	120	141	100	138	130	137	83
<b>Gattungsreichtum (richness)</b>												
Anzahl Gattungen S	32	12	20	8	39	27	19	21	31	34	23	14
R1	6,51	2,30	4,44	1,95	7,64	5,43	3,64	4,34	6,09	6,78	4,47	2,94
<b>Diversität (diversity)</b>												
λ	0,05	0,62	0,11	0,23	0,06	0,19	0,33	0,10	0,07	0,06	0,38	0,28
H'	3,12	0,95	2,55	1,67	3,16	2,26	1,76	2,52	2,91	3,04	1,76	1,83
N1	22,6	2,6	12,8	5,3	23,5	9,6	5,8	12,5	18,4	21,0	5,8	6,3
N2	20,4	1,6	8,8	4,4	18,0	5,3	3,1	9,7	13,7	17,0	2,7	3,6
<b>Verteilung (evenness)</b>												
E5	0,90	0,39	0,66	0,78	0,76	0,50	0,43	0,75	0,73	0,80	0,35	0,50

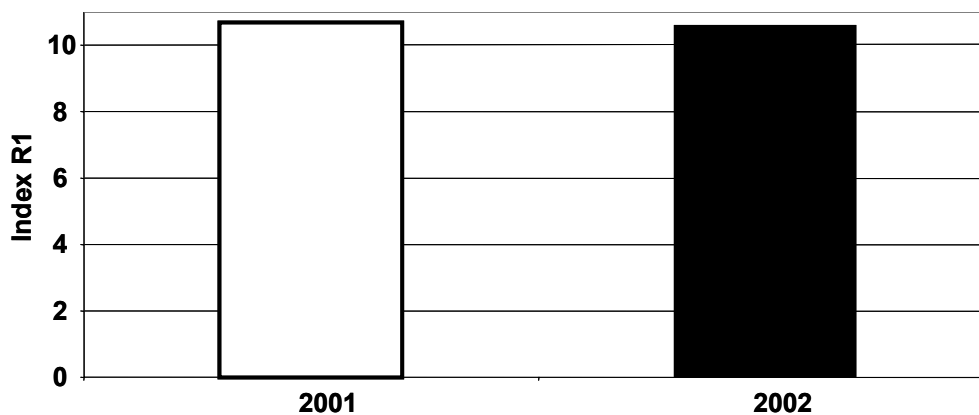
<sup>1)</sup> Entwicklungsstadien: EC 20=Jugend, EC 60=Blüte, EC 80=Reife

<sup>2)</sup> Habitate: R=Rhizosphäre, P=Phyllosphäre, RE=Endorhiza und PE=Endosphäre

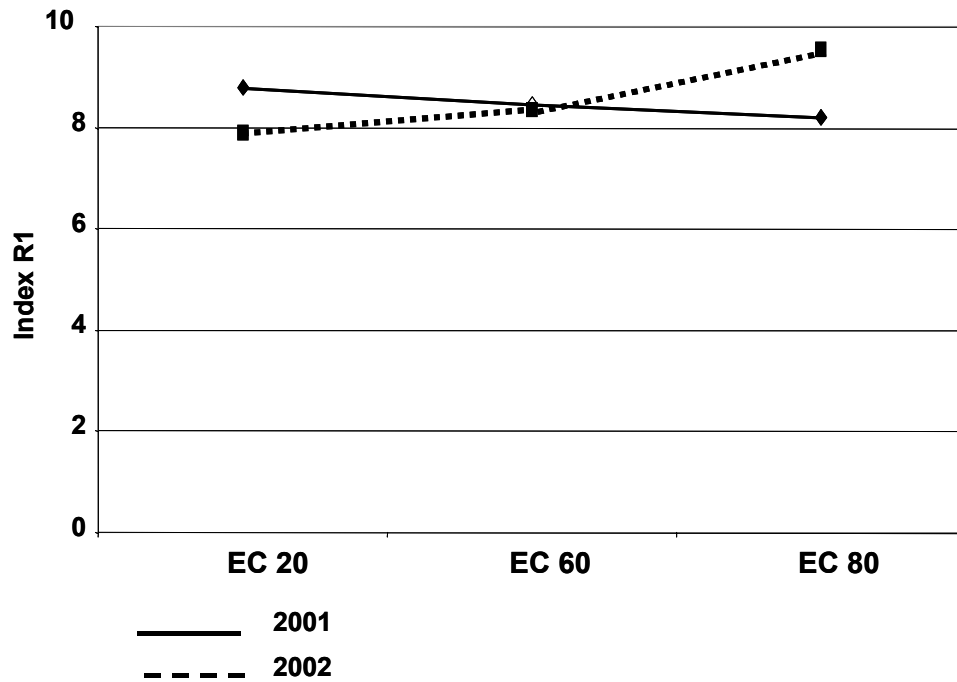
#### 2.3.4.5.1 Gattungsreichtum (richness)

Zur Bestimmung des Gattungsreichtums wurde der Richness-Index R1 von MARGALEF [1958] ermittelt. Bei der Berechnung von R1 werden neben der Anzahl der Gattungen (S) auch die unterschiedlichen Stichprobenumfänge (n) berücksichtigt.

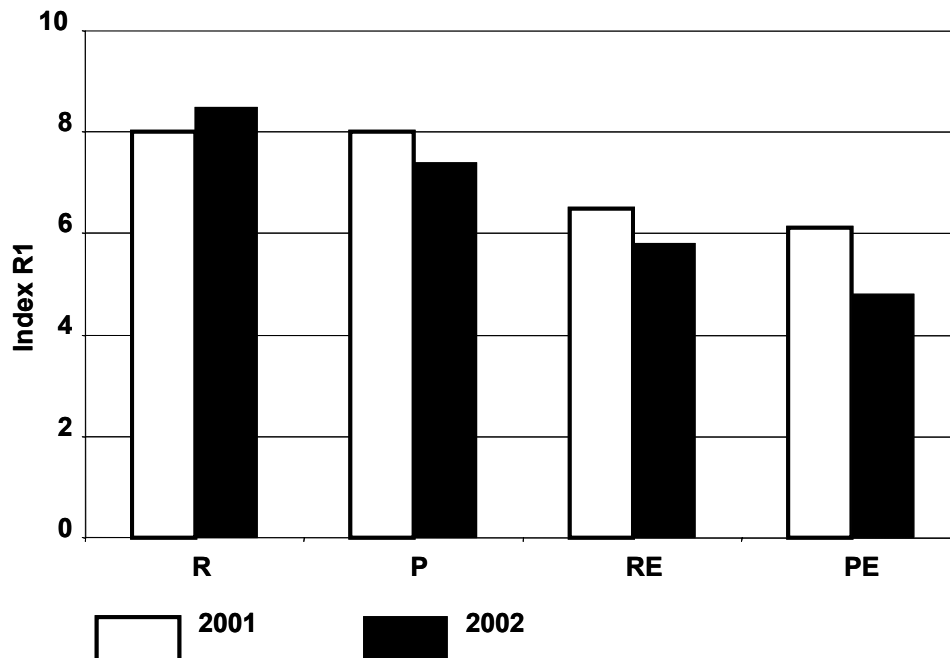
Der R1-Index für das Gesamtspektrum der Bakteriengattungen war mit 10,7 bzw. 10,6 in den Jahren 2001 und 2002 nahezu identisch (Abb. 3). Innerhalb eines Jahres zeigten sich jedoch Unterschiede im R1-Index zwischen den Probennahmeterminen (Abb. 4). Während im Jahr 2001 der R1-Index vom Jugendstadium (8,8) zur Reife (8,2) gering abnahm, stieg er im Jahr 2002 von 7,8 auf 9,5 an. Bezogen auf die Mikrohabitate zeigten beide Jahre eine ähnliche Tendenz im R1-Index, wobei die Werte im Jahre 2002 mit Ausnahme der Rhizosphäre etwas unter denen von 2001 lagen (Abb. 5). In 2001 lag der R1-Index der Rhizosphäre und der Phyllosphäre bei 8,0, in der Endorhiza bei 6,5 und in der Endosphäre bei 6,1. Im Jahre 2002 betrugen die entsprechenden Werte 8,5 (Rhizosphäre), 7,4 (Phyllosphäre), 5,8 (Endorhiza) und 4,8 (Endosphäre).



**Abb. 3:** Gattungsreichtum R1 in den Jahren 2001 und 2002



**Abb. 4:** Veränderung des Gattungsreichtums R1 der Jahre 2001 und 2002 im Laufe der Vegetationsperiode (EC 20=Jugend, EC 60=Blüte, EC 80=Reife)

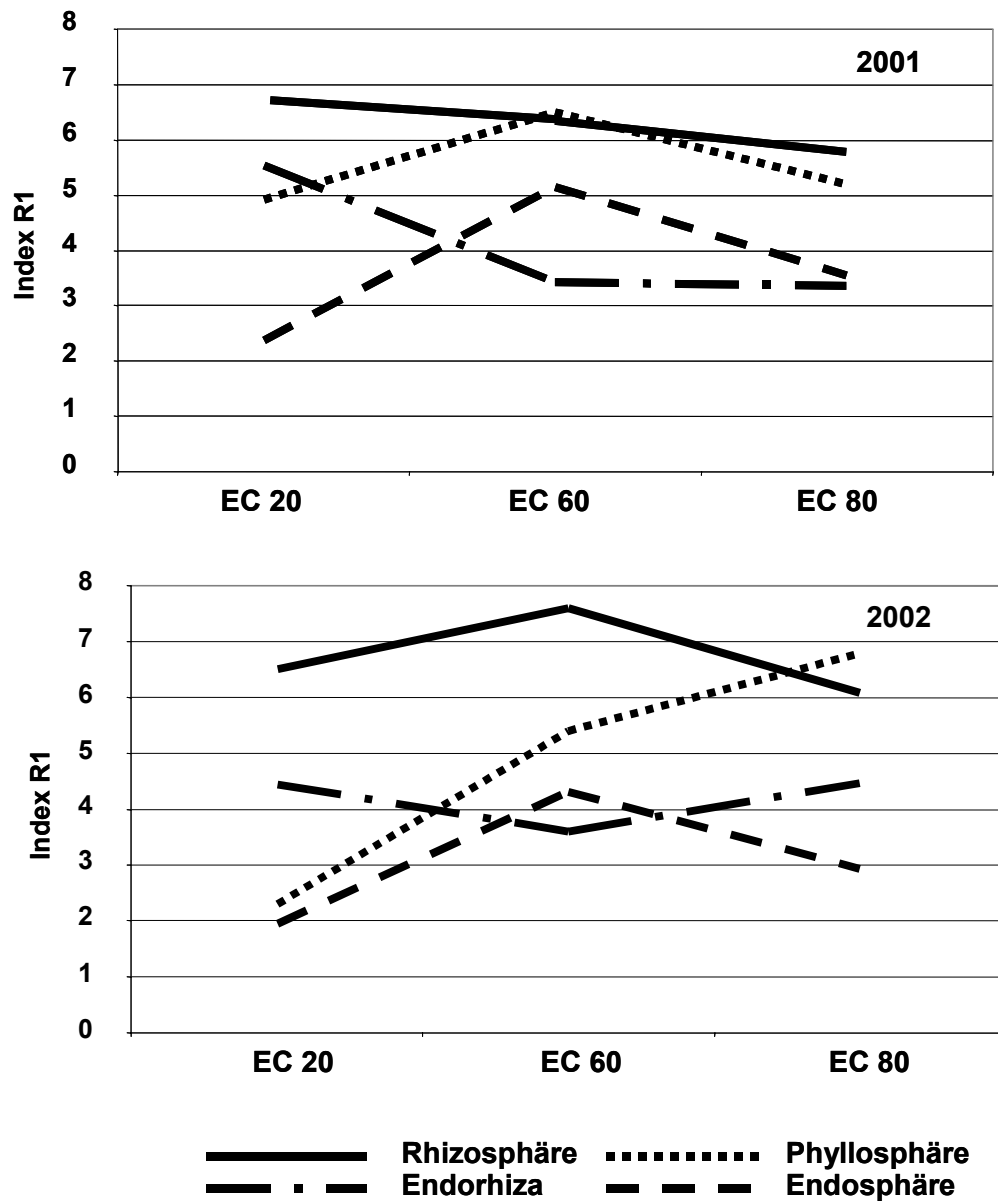


**Abb. 5:** Gattungsreichtum (R1) in den Jahren 2001 und 2002 in Abhängigkeit der Mikrohabitate (R=Rhizosphäre, P=Phyllosphäre, RE=Endorhiza, PE=Endosphäre)



Ein Vergleich des Gattungsreichtums über die Vegetationsperiode der Jahre 2001 und 2002 ließ sowohl Unterschiede als auch Ähnlichkeiten zwischen den einzelnen Mikrohabitaten erkennen (Abb. 6). So zeigten sich sowohl in der Endorhiza als auch in der Endosphäre ähnliche Veränderungen im R1-Index im Laufe der Vegetationsperiode beider Jahre. In der Endosphäre stieg der R1-Index von 2,4 (2001) bzw. 1,95 (2002) im Jugendstadium auf 5,4 (2001) bzw. 4,3 (2002) zur Blüte und fiel zur Reife auf 3,6 (2001) bzw. 2,9 (2002) ab. Der R1-Index der Endorhiza betrug im Jugendstadium 5,5 (2001) bzw. 4,4 (2002), sank zur Blüte auf 3,4 (2001) bzw. 3,6 (2002) ab und betrug zur Reife 3,4 (2001) bzw. 4,5 (2002).

Für die Rhizosphäre und Phyllosphäre zeigten sich deutliche Unterschiede im R1-Index zwischen den Jahren als auch zwischen den Probennahmeterminen eines Jahres. In der Rhizosphäre sank der R1-Index im Jahr 2001 stetig von 6,7 im Jugendstadium auf 5,8 zur Reife. Im Jahr 2002 stieg er dagegen von 6,5 im Jugendsadium auf 7,6 zur Blüte an und fiel zur Reife auf einen Wert von 6,1 wieder ab. In der Phyllosphäre stieg der R1-Index in 2001 von 4,9 im Jugendstadium auf 6,5 in der Blüte an und fiel zur Reife auf 5,2 ab. Demgegenüber war der R1-Index im Jahre 2002 mit 2,3 im Jugendstadium geringer als im Vorjahr, stieg dann aber bis zur Reife auf 6,8 an.

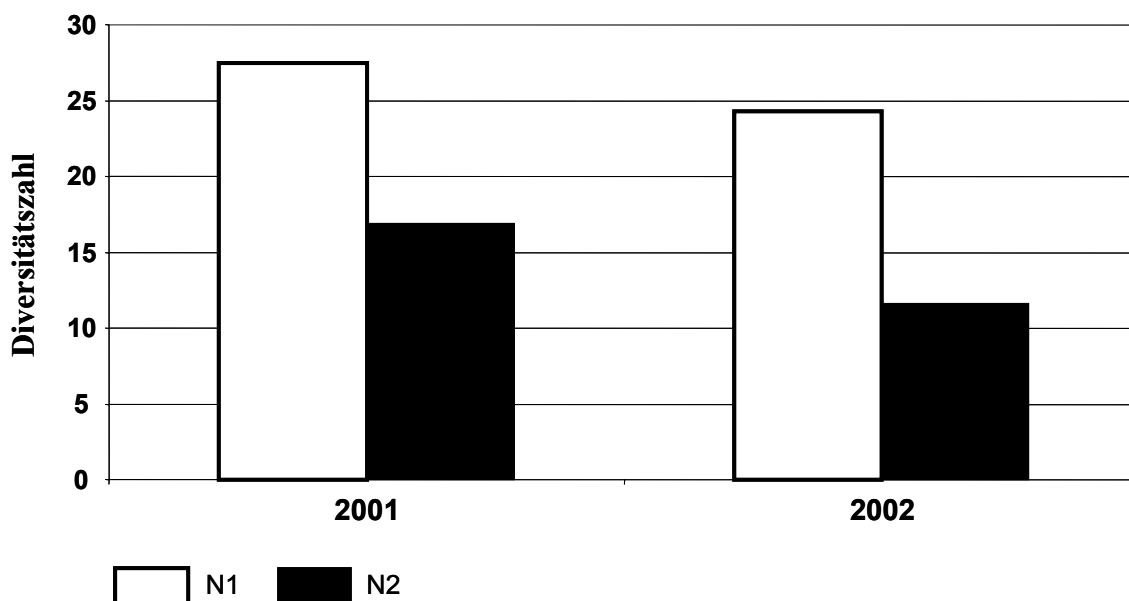


**Abb. 6:** Veränderung des Gattungsreichtums R1 in Abhängigkeit von Mikrohabitat und Probennahmetermin in den Jahren 2001 und 2002 (Entwicklungsstadien EC 20=Jugend, EC 60=Blüte, EC 80=Reife)

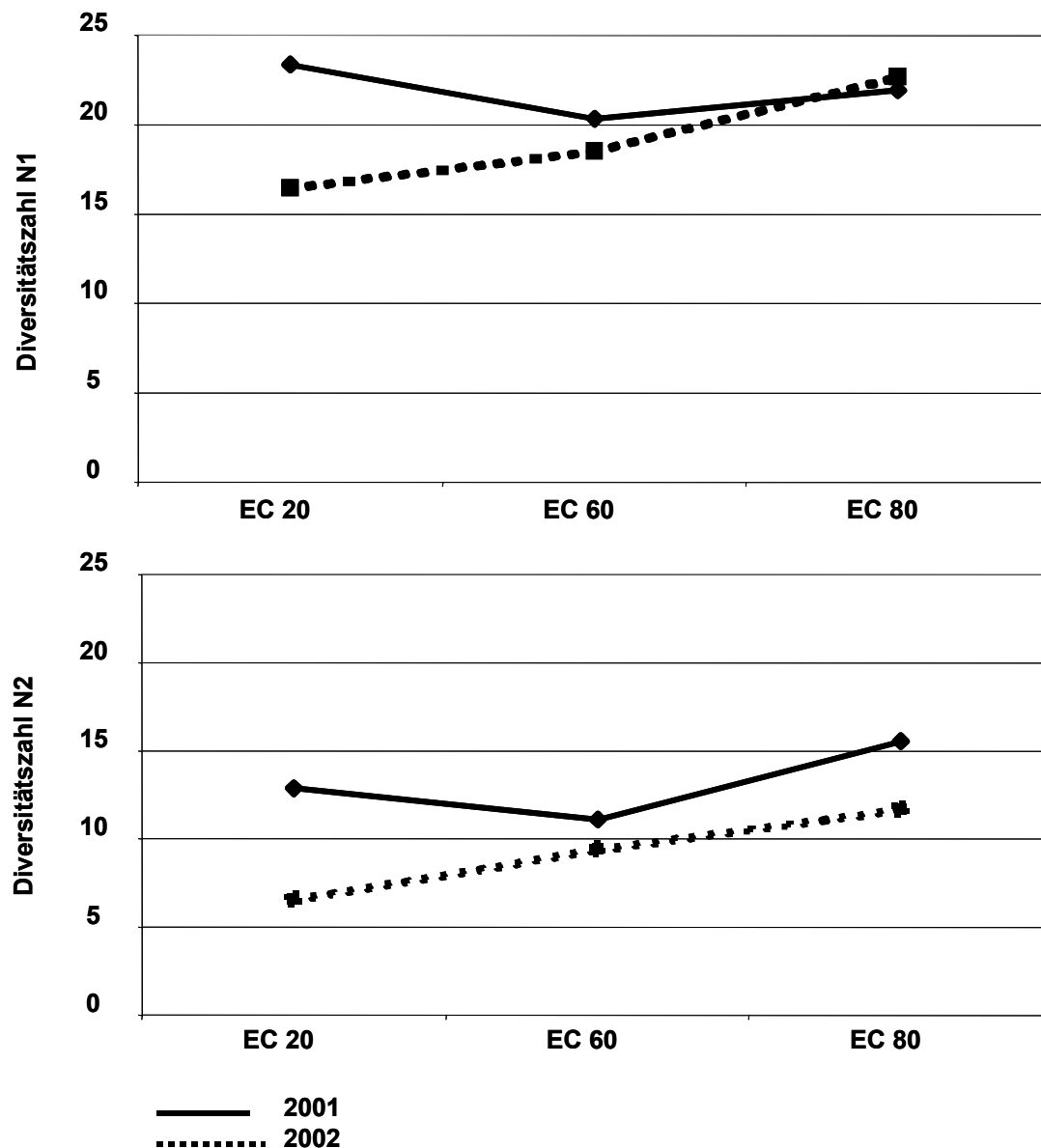
#### 2.3.4.5.2 Diversität (diversity)

Die Diversität ist ein Maß für die Häufigkeit einer Gattung innerhalb einer Population, die nach der Häufigkeit ihres Auftretens gewichtet wird. Hierzu wurden die HILL's Diversitätszahlen N1 und N2 berechnet, wobei N1 die Dominanz der mittelhäufigen Arten bzw. Gattungen, N2 die Dominanz der häufigsten Arten bzw. Gattungen berücksichtigt.

Die Diversität des gesamten Bakterienspektrums unterschied sich nicht wesentlich zwischen den Jahren 2001 und 2002 (Abb. 7). Sowohl N1 als auch N2 waren im Jahr 2001 mit 27,5 bzw. 16,9 etwas höher als die in 2002 mit 24,3 bzw. 11,6. Unterschiede in der Diversität zeigten sich aber bei besonderer Betrachtung der Untersuchungsfaktoren Probennahmetermin und Mikrohabitat. Im Jahre 2001 war vom Beginn der Vegetationsperiode bis zur Blüte ein leichter Rückgang der Diversität zu erkennen, und zwar für N1 von 23,3 auf 20,3 und für N2 von 12,9 auf 11,1 (Abb. 8). Bis zum Reifestadium stiegen beide Indices dann auf 22 (N1) bzw. 15,5 (N2) an. Im Gegensatz dazu stieg die Diversität in der Vegetationsperiode 2002 vom Jugendstadium bis zur Reife kontinuierlich von 16,5 auf 22,6 (N1) bzw. von 6,6 auf 11,7 (N2).

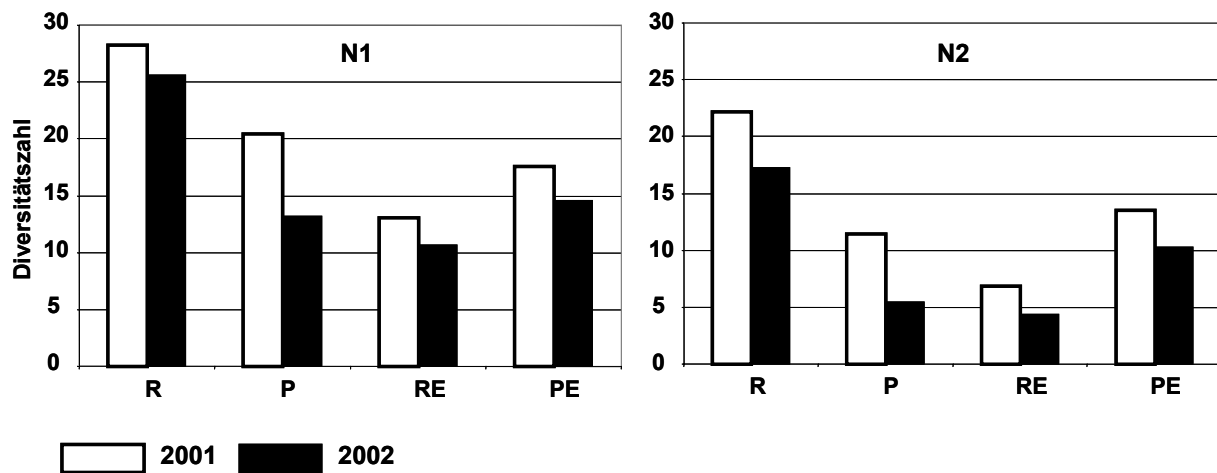


**Abb. 7:** Diversität des gesamten Bakterienspektrums in den Jahren 2001 und 2002 ausgedrückt durch die Diversitätszahlen N1 und N2 nach HILL (1973).



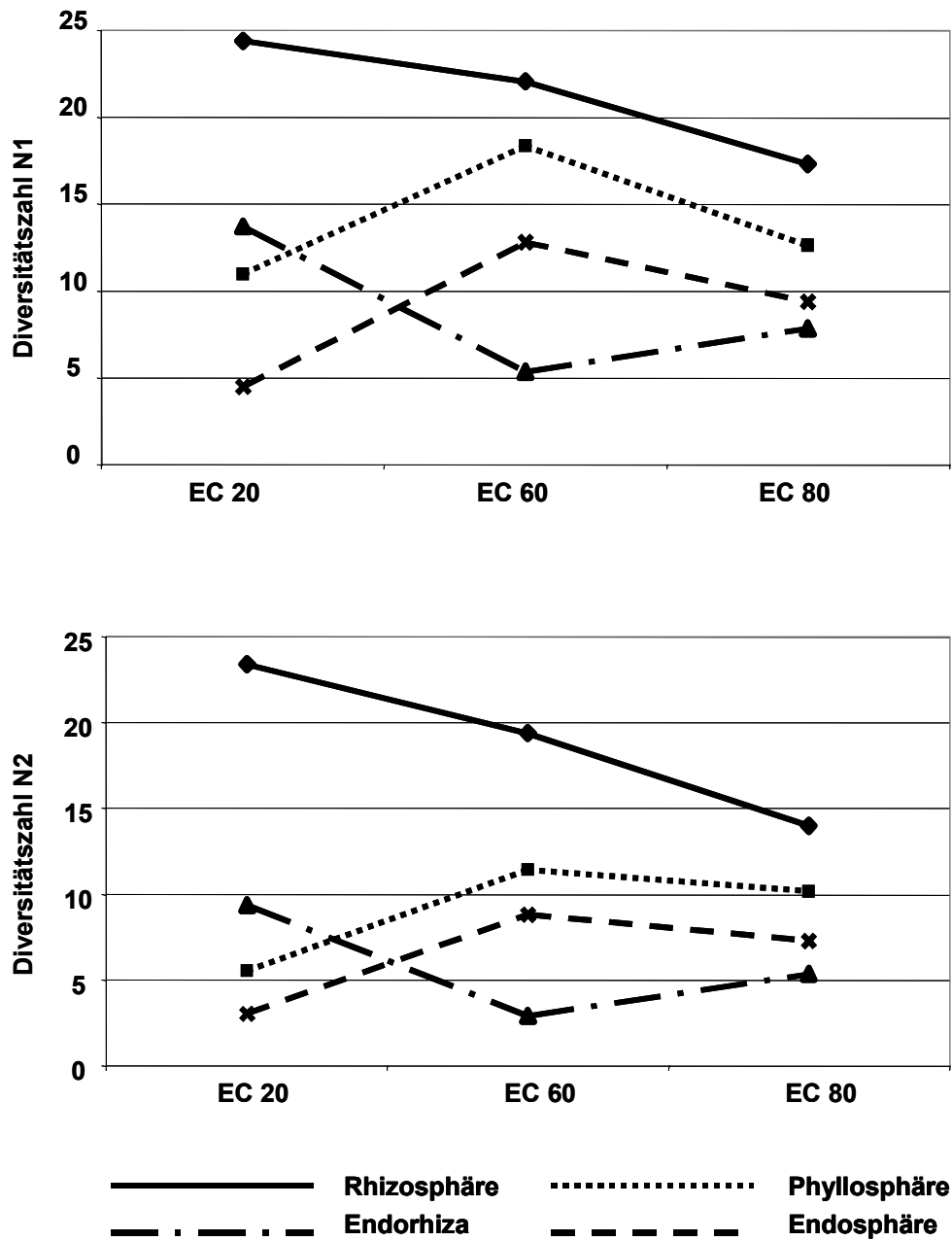
**Abb. 8:** Veränderung der Diversität der Bakteriengattungen N1 und N2 im Laufe der Vegetationsperiode in den Jahren 2001 und 2002 (Entwicklungsstadien: EC 20=Jugend, EC 60=Blüte, EC 80=Reife)

Bezogen auf die Mikrohabitate zeigte die Diversität in 2001 und 2002 vergleichbare Tendenzen, wobei die Werte im Jahr 2001 etwas höher lagen als in 2002 (Abb. 9). Der N1-Index war am höchsten für die Rhizosphäre mit 28,2 im Jahre 2001 und 25,6 im Jahr 2002, gefolgt von der Phyllosphäre mit 20,4 bzw. 13,2. Die Diversität der Endosphäre war in beiden Jahren mit N1-Werten von 17,6 bzw. 14,6 höher als die der Endorhiza mit 13,0 bzw. 10,7. Beim N2-Index zeigten sich mit 13,5 (2001) bzw. 10,3 (2002) höhere Werte in der Endosphäre als in der Phyllosphäre mit 11,7 bzw. 5,4. Die N2-Werte der Endorhiza betrugen 6,9 in 2001 und 4,3 in 2002.

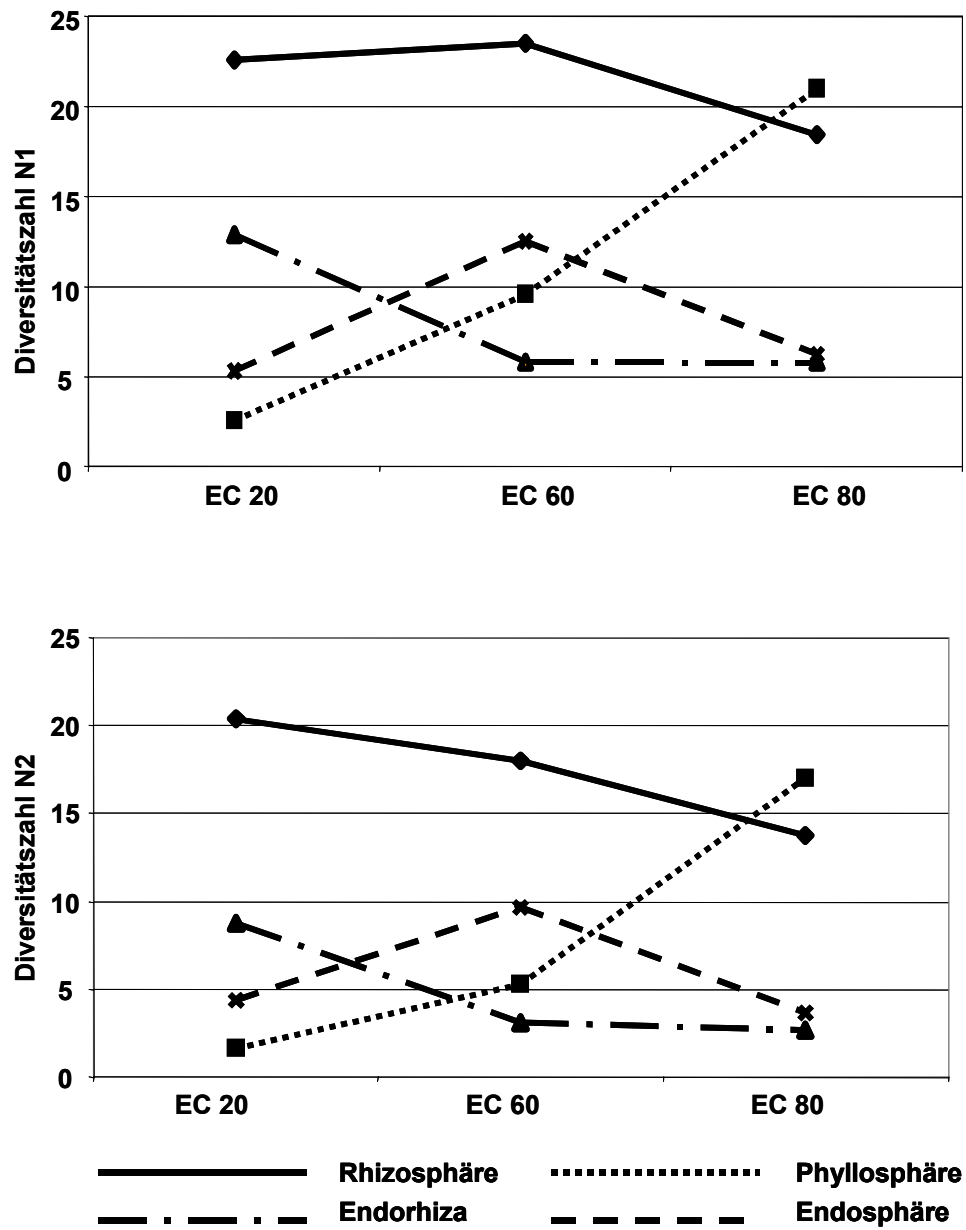


**Abb. 9:** Diversitätszahlen N1 und N2 (nach HILL 1973) in den unterschiedlichen Mikrohabitaten der Jahre 2001 und 2002 (R=Rhizosphäre, P=Phyllosphäre, RE=Endorhiza, PE=Endosphäre)

Die Veränderung der Diversität über die Vegetationsperiode zeigte in den einzelnen Habitaten, mit Ausnahme der Phyllosphäre, in beiden Jahren gleiche Tendenzen (Abb. 10 und 11). Demnach stieg der N1-Index der Endosphäre bis zur Blüte von 4,5 (2001) bzw. 5,3 (2002) auf einen maximalen Wert von 12,8 bzw. 12,5 an und fiel zur Reife wieder auf 9,4 bzw. 6,3 ab. In der Endorhiza verhielt sich die Diversität genau entgegengesetzt. Der N1-Index fiel von 13,7 (2001) bzw. 12,8 (2002) im Jugendstadium auf 5,3 (2001) bzw. 5,8 (2002) zur Blüte ab und stieg in 2001 zur Reife auf 7,8 an, während er in 2002 auf dem gleichen Niveau wie zur Blüte bei 5,8 verblieb. In der Rhizosphäre sank die Diversität von 24,4 (2001) bzw. 22,6 (2002) in der Jugend auf 17,3 bzw. 18,4 in der Reife. Die größten Veränderungen in der Bakteriendiversität zeigten sich in der Phyllosphäre. In 2001 betrug der N1-Index im Jugendstadium 11,0, stieg zur Blüte auf 18,4 an und sank zur Reife wieder auf 12,6 ab. In 2002 dagegen war der Wert im Jugendstadium mit 2,9 deutlich geringer als in 2001. Zur Blüte hin stieg er auf 9,6 an und erreichte mit 21,0 die höchste Diversität im Stadium der Reife. Bei etwas niedrigeren Werten zeigte der N2-Index einen ähnlichen Verlauf in den jeweiligen Habitaten wie N1. Er war im Jahr 2001 in der Phyllosphäre und Endosphäre etwas flacher. Der N2-Index erreichte mit 11,4 in der Phyllosphäre bzw. 8,8 in der Endosphäre sein Maximum zur Blüte. Zur Reife sanken die Werte auf 10,2 bzw. 7,3 ab.



**Abb. 10:** Veränderung der Diversitäten N1 und N2 in den Mikrohabitaten im Laufe der Vegetationsperiode 2001 (Entwicklungsstadien: EC 20=Jugend, EC 60=Blüte, EC 80=Reife)



**Abb. 11:** Veränderung der Diversitäten N1 und N2 in den Mikrohabitaten im Laufe der Vegetationsperiode 2002 (Entwicklungsstadien: EC 20=Jugend, EC 60=Blüte, EC 80=Reife)

#### **2.3.4.5.3 Verteilung (Evenness)**

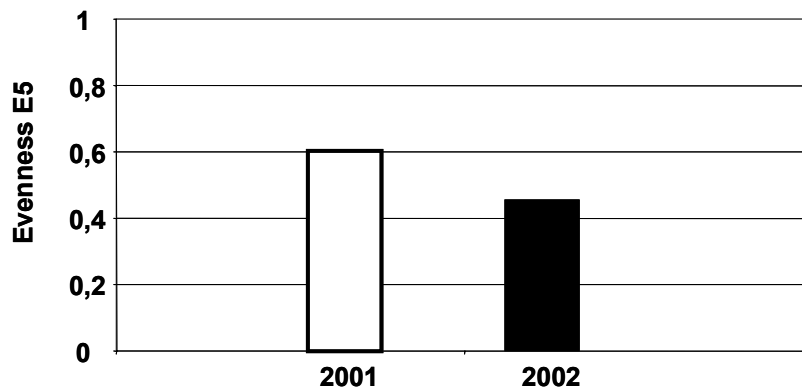
Zur Berechnung der Gleichmäßigkeit der Verteilung der Bakterienisolate auf die Gattungen wurde der Evenness-Index (E5), modifiziert durch HILL (1973b), berechnet. Dieser Index wurde für die Datenauswertung herangezogen, da er unabhängig vom Gattungsreichtum und Stichprobenumfang ist und wenig auf Veränderungen im Gattungsreichtum reagiert. Der Index erreicht sein Maximum, wenn alle Individuen gleichmäßig auf die Gattungen verteilt sind und tendiert gegen 0, wenn einzelne Gattungen zunehmend dominant werden. Abbildung 12 zeigt die Gleichmäßigkeit der Verteilung der Isolate auf die Gattungen im Jahr 2001 und 2002. Über die gesamte Vegetationsperiode waren die Bakteriengattungen im Jahr 2001 mit einem E5-Wert von 0,602 etwas gleichmäßiger verteilt als im Jahr 2002 (0,454).

Der Verlauf der Vegetationsperiode 2002 zeigte ein stärkeres Ungleichgewicht mit einem geringen E5-Wert von 0,36 im Jugendstadium, der bis zur Blüte etwas anstieg und von da bis zur Reife bei einer Verteilung von 0,5 konstant blieb (Abb. 13). In 2001 war die Verteilung der Isolate auf die Gattungen mit 0,53 etwas gleichmäßiger, und stieg bis zur Reife auf einen E5-Wert von 0,7 an.

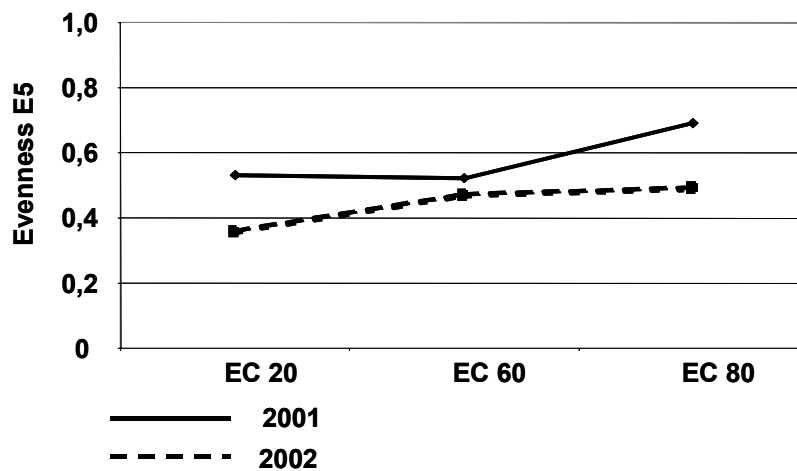
Bezogen auf die einzelnen Habitate (Abb. 14) war der E5-Index in 2001 sowohl in der Rhizosphäre (0,77) als auch in der Endosphäre (0,75) etwa gleich, während er in der Phyllosphäre bei 0,54 und in der Endorhiza bei 0,49 lag. In 2002 ergab sich ein ähnliches Bild, jedoch mit insgesamt etwas geringeren Werten für alle Habitate. Auch hier waren die Isolate in der Rhizosphäre (0,66) ähnlich der Endosphäre (0,66) verteilt, gefolgt von den Isolaten der Phyllosphäre und Endorhiza mit E5-Werten von 0,36 bzw. 0,35.

Betrachtet man die Evenness in Abhängigkeit von Probennahmetermin und Mikrohabitat, so wurde der höchste E5-Wert im Jugendstadium in der Rhizosphäre beobachtet. Er lag in 2001 bei 0,96 und in 2002 bei 0,9 (Abb. 15). Zur Reife sank der Wert kontinuierlich auf 0,80 (2001) bzw. 0,73 (2002) ab. Die geringen E5-Werte in der Phyllosphäre zeigten mit Werten zwischen 0,46 (2001) und 0,39 (2002) starke Ungleichgewichte in der Verteilung der Bakterienisolate im Jugendstadium, die sich aber bis zur Reife in beiden Jahren bis zu einem Wert von 0,8 anglichen. Gegensätzliche Tendenzen in der Verteilung zeigten die endophytischen Habitate. In der Endorhiza sank der E5-Index bis zur Blüte in beiden Jahren von 0,66 auf 0,44 (2001) bzw. 0,43 (2002). Im Jahr 2001 stieg der Wert zur Reife hin wieder bis auf 0,64 an, sank dagegen in 2002 weiter auf einen Wert von 0,35 ab. In der Endosphäre zeigten sich ähnliche Unterschiede. Während E5 im Jahre 2001 im Laufe der Vegetationsperiode von 0,59 auf 0,75 anstieg, sank er in 2002 bis zur Blüte leicht von 0,78 auf 0,75 und bis zur Reife stärker auf 0,5 ab.

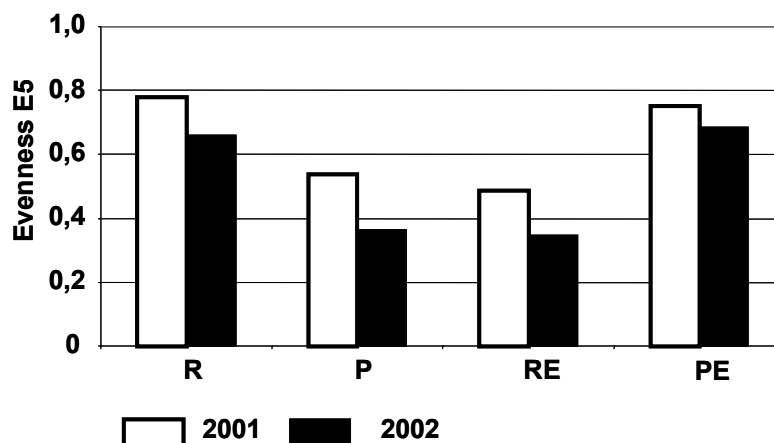




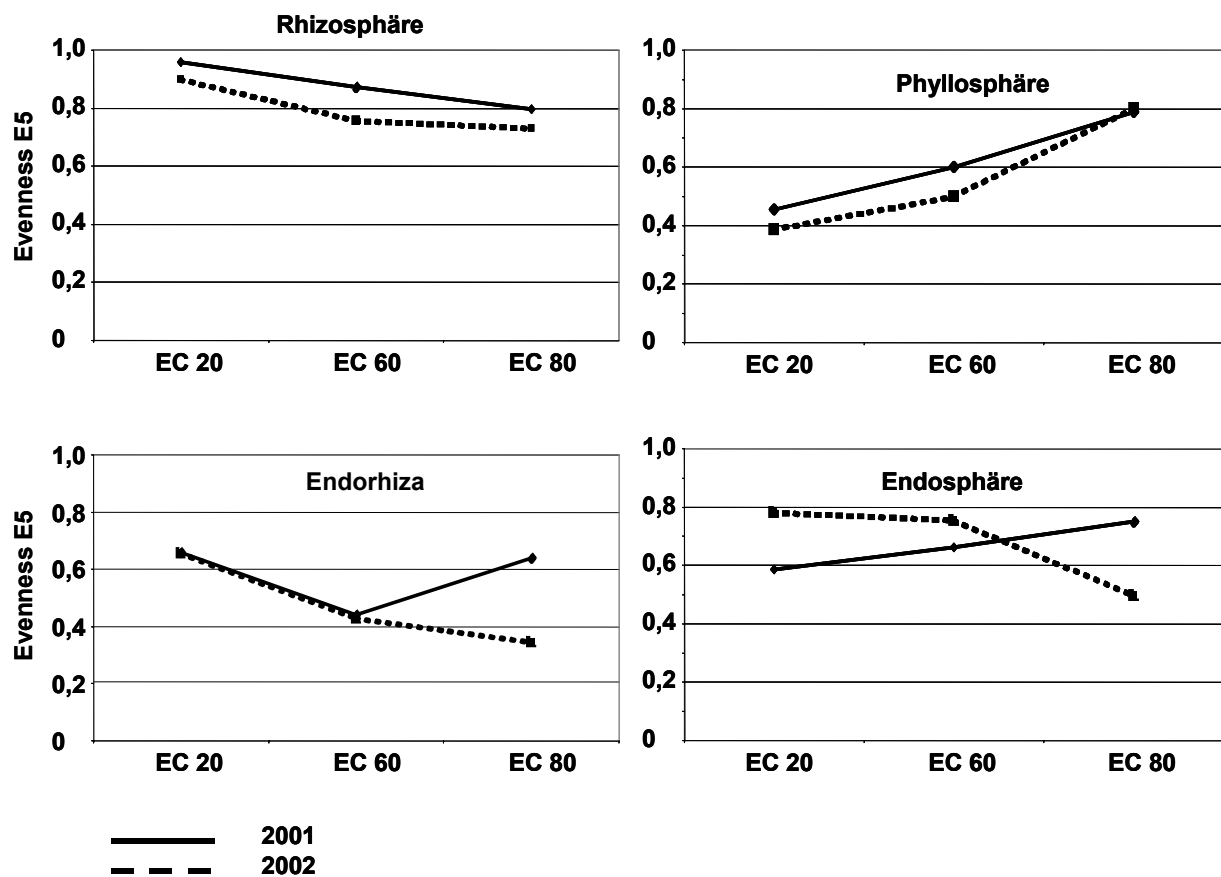
**Abb. 12:** Gleichmäßigkeit der Verteilung (Evenness E5) der Bakterienisolate auf die Bakteriengattungen in den Jahren 2001 und 2002



**Abb. 13:** Veränderung der Evenness E5 im Laufe der Vegetationsperiode (Entwicklungsstadien: EC 20=Jugend, EC 60=Blüte, EC 80=Reife)



**Abb. 14:** Evenness (E 5) in Abhängigkeit von Habitat und Vegetationsperiode (R=Rhizosphäre, P=Phyllosphäre, RE=Endorhiza, PE=Endosphäre)

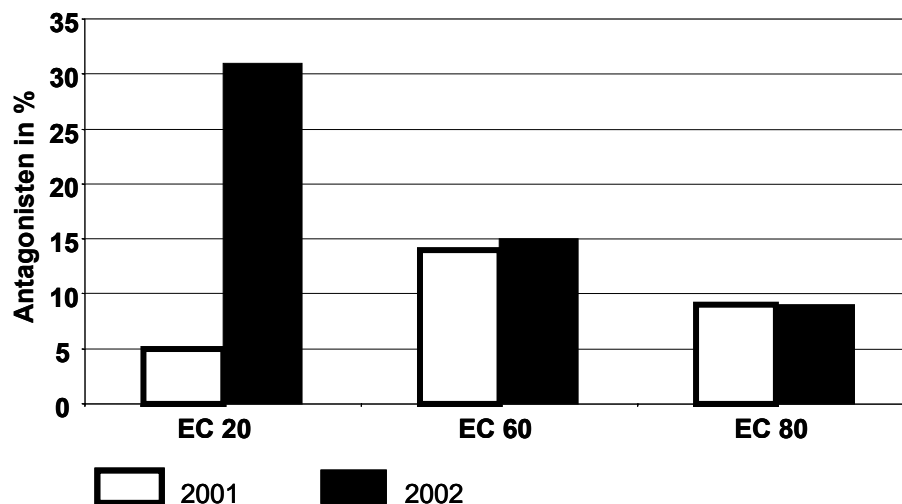


**Abb. 15:** Veränderung der E5-Werte in den Mikrohabitaten in Abhängigkeit von Vegetationsstadium und Vegetationsperiode (Entwicklungsstadien: EC 20=Jugend, EC 60=Blüte, EC 80=Reife)

### 2.3.5 Bakterienisolate mit antagonistischer Wirkung gegen pilzliche Schaderreger

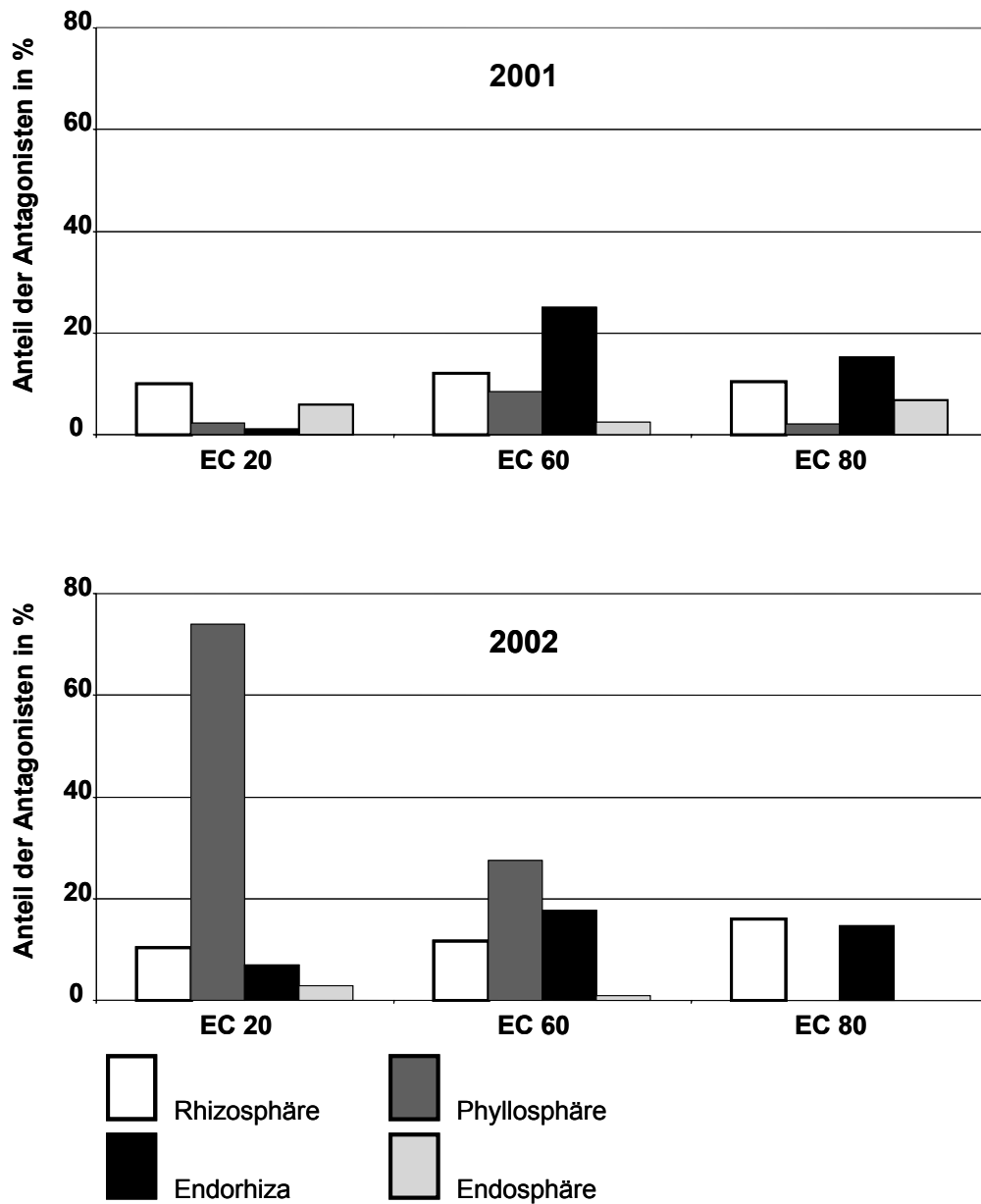
Im Rahmen des Gemeinschaftsprojektes wurden an der Universität Rostock alle Bakterienisolate mit Hilfe eines Dualkulturtestes auf ihre antagonistische Aktivität gegenüber den pilzlichen Schaderregern *Verticillium dahliae* Stamm ELV16 und *Rhizoctonia solani* getestet. Im weiteren Verlauf der Ausführungen werden alle Bakterienisolate, die im Dualkulturtest eine antagonistische Wirkung gegen die pilzlichen Schaderreger zeigten, als antagonistisch bezeichnet.

Der Anteil antagonistisch wirksamer Isolate unterschied sich sehr stark im Jugendstadium der beiden Vegetationsperioden. In 2001 lag er bei 5 % und in 2002 bei 31 %. Im Stadium der Blüte erreichten die antagonistischen Isolate in beiden Jahren einen ähnlich hohen Anteil von 14 % (2001) bis 15 % (2002). Zur Reife sank er in beiden Jahren auf 9 % ab.



**Abb. 16:** Prozentualer Anteil der gegen *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani* antagonistisch wirksamer Bakterienisolate in den Jahren 2001 und 2002 in Abhängigkeit vom Vegetationsstadium der Kartoffel (Entwicklungsstadien: EC 20=Jugend, EC 60=Blüte, EC 80=Reife)

Bei differenzierter Betrachtung von Mikrohabitat und Probennahmetermin zeigte sich, dass der Anteil antagonistisch wirksamer Isolate vor allem in der Rhizosphäre und Endorhiza erhöht war (Abb. 17). Zum Zeitpunkt der Blüte war der prozentuale Anteil der antagonistischen Bakterienisolate in der Endorhiza mit 24,3 % (2001) bzw. 17,7 % (2002) besonders hoch und wies auch zur Reife hin noch Werte von 15,3 % (2001) bzw. 14,6 % (2002) auf. Der Anteil antagonistischer Bakterienisolate in der Rhizosphäre blieb über die Vegetationsperiode beider Jahre in einem relativ konstanten Bereich zwischen 10 % und 12 % und stieg nur im Reifestadium 2002 auf fast 17 % an. In der Endosphäre lag der Anteil antagonistischer Isolate jeweils unter 7 %. In 2001 war der prozentuale Anteil der Antagonisten mit 2,4 % am niedrigsten, während zu Beginn und zum Ende der Vegetationsperiode noch Werte zwischen 6 % und 7 % zu verzeichnen waren. Im Jahr 2002 war der Anteil antagonistischer Bakterienisolate im Jugendstadium mit knapp 3 % am höchsten. Im Stadium der Blüte zeigte nur 1 % der Bakterien noch antagonistische Wirkung, während im Reifestadium keine antagonistische Aktivität mehr beobachtet werden konnte. In der Phyllosphäre variierte der Anteil antagonistischer Isolate im Laufe der Vegetationsperiode erheblich. In 2001 stieg der prozentuale Anteil an Antagonisten von 2,3 % auf ein Maximum in der Blüte von 9,2 % und fiel zur Reife wieder auf einen Anteil von 2,0 % zurück. In 2002 dagegen betrug der Anteil der antagonistischen Bakterienisolate zum Jugendstadium in diesem Habitat 73,9 % und sank bis zur Blüte auf 27,5 %. Im Stadium der Reife wurde kein antagonistisches Isolat in der Phyllosphäre gefunden.



**Abb. 17:** Prozentualer Anteil der gegen *Rhizoctonia solani* und *Verticillium dahliae* wirksamen Bakterienisolate in den Mikrohabitaten in Abhängigkeit vom Probennahmetermin in den Jahren 2001 und 2002 (Entwicklungsstadien: EC 20=Jugend, EC 60=Blüte, EC 80=Reife)

### 2.3.5.1 Bakteriengattungen mit antagonistischem Potenzial gegen *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani*

Im Versuchsjahr 2001 verteilten sich die antagonistischen Bakterienisolate insgesamt auf 17 verschiedene Gattungen, in 2002 waren es 8 Gattungen (Tab. 11). Die Gattung *Pseudomonas* hatte im Jahr 2001 einen Anteil von fast 48 % an den Antagonisten, im Folgejahr waren es noch 43 %. *Bacillus* stellte in 2001 9 % und in 2002 rund 45 % aller Antagonisten. Die nicht identifizierbaren Gattungen (no match) hatten in 2001 einen Anteil von 14 % an den Antagonisten, in 2002 einen Anteil von 7 %. Die antagonistischen Isolate der Bakteriengattungen *Paenibacillus* und *Streptomyces*, deren Anteil in 2001 auch weniger als 1 % betrug, lag in 2002 minimal höher bei 1 % bzw. 3 %. Ausschließlich im Jahr 2001 waren die Gattungen *Agrobacterium*, *Arthrobacter* und *Curtobacterium* mit einem Anteil von 5 %, *Erwinia* mit 4 %, *Comamonas*, *Flavobacterium* und *Serratia* mit jeweils knapp 2 % und die Gattungen *Micrococcus*, *Rhodococcus*, *Stenotrophomonas* und *Variovorax* mit einem Anteil von weniger als 1 % an den antagonistischen Isolaten beteiligt. Nur in 2002 traten Antagonisten der Gattungen *Citrobacter* und *Enterobacter* mit je einem Isolat auf.

**Tab. 11:** Anzahl der Bakterienisolate mit antagonistischem Potenzial gegen *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani* bezogen auf die Gattungen in den Jahren 2001 und 2002

Gattung	2001	2002
<i>Agrobacterium</i>	6	
<i>Arthrobacter</i>	6	
<i>Bacillus</i>	11	100
<i>Citrobacter</i>		1
<i>Comamonas</i>	2	
<i>Curtobacterium</i>	6	
<i>Enterobacter</i>		1
<i>Erwinia</i>	5	
<i>Flavobacterium</i>	2	
<i>Micrococcus</i>	1	
<i>no match</i>	17	16
<i>Paenibacillus</i>	1	3
<i>Pseudomonas</i>	59	96
<i>Rhodococcus</i>	1	
<i>Serratia</i>	2	
<i>Sphingobacterium</i>	1	1
<i>Stenotrophomonas</i>	1	
<i>Streptomyces</i>	1	6
<i>Variovorax</i>	2	
<b>Summe</b>	<b>124</b>	<b>224</b>

### 2.3.5.2 Antagonisten im Laufe der Vegetationsperiode

Bezogen auf die Probennahmeterminale innerhalb der Vegetationsperiode war der Anteil der antagonistisch wirksamen Isolate teilweise recht unterschiedlich gewichtet (Tab. 12). Antagonistische Isolate bestimmter Bakteriengattungen traten verstärkt im Jugendstadium bzw. zur Reife auf, andere dominierten zum Stadium der Blüte. Zu Letzteren zählte die Bakteriengattung *Pseudomonas* (27 %). In 2001 hatte *Bacillus* im Jugendstadium und zur Reife einen Anteil von 2 % bzw. 1 %, *Pseudomonas* entsprechend von 0 % bzw. 20 %. Antagonistische Isolate der Gattung *Arthrobacter* waren nur zur Blüte mit 5 % vertreten. Antagonistische Isolate der Gattungen *Curtobacterium* und *Erwinia* fanden sich zu Beginn und gegen Ende der Vegetationsperiode. Die übrigen Bakterienisolate traten nur zum Zeitpunkt der Blüte als Antagonisten auf. Antagonistische Isolate der Gattung *Bacillus* dominierten im Jugendstadium 2002 mit einem Anteil von 42 % und waren zur Blüte und zur Reife mit 2 % bzw. 1 % vertreten. Die Gattung *Streptomyces* stellte 1 % der antagonistischen Isolate zur Blüte und Reife. Alle restlichen Gattungen waren nur zu geringen Anteilen (<1 %) am antagonistischen Spektrum beteiligt.

**Tab. 12:** Prozentualer Anteil der gegen *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani* antagonistischen Isolate an der Gesamtzahl der Antagonisten pro Jahr (0=<0,5 % Anteil an den Antagonisten)

EC-Stadium	2001			2002		
	EC 20 <sup>a</sup>	EC 60 <sup>b</sup>	EC 80 <sup>c</sup>	EC 20 <sup>a</sup>	EC 60 <sup>b</sup>	EC 80 <sup>c</sup>
<b><i>Agrobacterium</i></b>	3	1	1			
<b><i>Arthrobacter</i></b>		5				
<b><i>Bacillus</i></b>	2	6	1	42	2	1
<b><i>Chryseobacterium</i></b>				0		
<b><i>Citrobacter</i></b>						
<b><i>Comamonas</i></b>			2			
<b><i>Curtobacterium</i></b>	1		4			
<b><i>Enterobacter</i></b>						0
<b><i>Erwinia</i></b>	3		1			
<b><i>Flavobacterium</i></b>	2					
<b><i>Micrococcus</i></b>	1					
<b><i>no match</i></b>	4	7	2	1	3	3
<b><i>Paenibacillus</i></b>	1			1	0	
<b><i>Pseudomonas</i></b>		27	20	3	27	13
<b><i>Rhodococcus</i></b>		1				
<b><i>Serratia</i></b>		1	1			
<b><i>Sphingobacterium</i></b>		1			0	
<b><i>Stenotrophomonas</i></b>		1				
<b><i>Streptomyces</i></b>		1		0	1	1
<b><i>Variovorax</i></b>		2				

Entwicklungsstadien: <sup>a</sup> EC 20=Jugend, <sup>b</sup> EC 60=Blüte, <sup>c</sup> EC 80=Reife

Das antagonistische Bakterienspektrum wurde durch wenige Arten bestimmt und die antagonistischen Isolate verteilten sich auf folgende Mikrohabitate: der Großteil der Antagonisten wurde in 2001 (Tab. 13) und 2002 (Tab. 14) aus der Rhizosphäre und der Endorhiza isoliert. Daneben wurde in 2002 ein signifikanter Anteil antagonistischer Isolate aus der Phyllosphäre (Jugend und Blüte) bestimmt. In der Rhizosphäre war *P. putida* mit 5 von 6 antagonistischen *Pseudomonas*-Isolaten in 2001 (83 %) und 5 von 12 Isolaten in 2002 (42 %) zur Reife am stärksten vertreten. In 2002 hatte dagegen *P. chlororaphis* mit 3 von 6 antagonistischen *Pseudomonas*-Isolaten den höchsten Anteil (50 %) in der Rhizosphäre. Im Jahr 2001 wurden in der Endorhiza im Blütestadium 26 von 30 antagonistischen *Pseudomonas*-Isolaten (87 %) als *P. putida* identifiziert, zur Reife waren es noch 8 von 15 Isolaten (53 %). In 2002 war *P. putida* zur Blüte mit 14 von 25 antagonistischen *Pseudomonas*-Isolaten (56 %) und zur Reife mit 10 von 17 Isolaten (59 %) vertreten. Die Art *P. corrugata* war ebenfalls zur Blüte 2002 mit 7 von 25 Isolaten (28 %) antagonistischen *Pseudomonas*-Isolaten in der Endorhiza vertreten, trat jedoch in den anderen Vegetationsstadien nicht als Antagonist in Erscheinung. In der Phyllosphäre dominierten im Jugendstadium 2002 *Bacillus pumilus* mit einem Anteil von 52 % und *B. subtilis* mit einem Anteil von 28 % an den antagonistischen *Bacillus*-Isolaten, zur Blüte dagegen *P. chlororaphis* mit 20 von 29 (69 %) und *P. putida* mit 9 von 29 antagonistischen *Pseudomonas*-Isolaten (31 %). Der Anteil antagonistischer Isolate in der Endosphäre war im Jahr 2001 höher als in 2002. Im Jugendstadium dominierte hier die Art *Agrobacterium radiobacter*, im Stadium der Reife dominierte die Art *Curtobacterium flaccumfaciens* mit jeweils 4 Isolaten. In der Blüte zeigten nur zwei Isolate von *Bacillus subtilis* und ein Isolat von *Bacillus pumilus* antagonistische Aktivität gegen die phytopathogenen Pilze *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani*.



**Tab. 13:** Anzahl der gegen *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani* antagonistisch wirksamen Isolate pro Bakterienart in Abhängigkeit von Probennahmetermin und Mikrohabitat im Jahre 2001

Bakterienart	EC 20 <sup>1)</sup>				EC 60				EC 80			
	R <sup>2)</sup>	P	RE	PE	R	P	RE	PE	R	P	RE	PE
<i>Agrobacterium radiobacter</i>				4	1						1	
<i>Arthrobacter globiformis</i>						2						
<i>Arthrobacter ilicis</i>					1							
<i>Arthrobacter oxydans</i>					1							
<i>Arthrobacter protoformiae/ramosus</i>					1	1						
<i>Bacillus cereus</i>									1			
<i>Bacillus feudenreichii</i>							1					
<i>Bacillus licheniformis</i>					1							
<i>Bacillus megaterium</i>	1											
<i>Bacillus mycoides</i>						1						
<i>Bacillus pumilus</i>		1				2		1				
<i>Bacillus subtilis</i>								2				
<i>Cellulomonas turbata</i>						1						
<i>Comamonas acidovorans</i>									2			
<i>Curtobacterium citreum</i>												1
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>												4
<i>Curtobacterium pusillum</i>	1											
<i>Erwinia amylovora</i>	4										1	
<i>Flavobacterium odoratum</i>	1											
<i>Flavobacterium resinovorum</i>	1											
<i>Methylobacterium mesophilicum</i>							1					
<i>Micrococcus kristinae</i>	1											
<i>Paenibacillus polymyxa</i>		1										
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>							1		1	1		
<i>Pseudomonas fluorescens</i>							2				3	
<i>Pseudomonas marginalis</i>									1			
<i>Pseudomonas mendocina</i>												1
<i>Pseudomonas putida</i>					3		26		5		8	1
<i>Pseudomonas rubrisalbicans</i>							1					
<i>Pseudomonas savastanoi</i>						1					3	
<i>Pseudomonas savastanoi pv. nerium</i>									1			
<i>Rhodococcus erythropolis</i>						1						
<i>Serratia grimesii</i>											1	
<i>Serratia proteamaculans</i>						1						
<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>					1							
<i>Staphylococcus warneri</i>					1							
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>					1							
<i>Streptomyces aureofaciens</i>					1							
<i>Variovorax paradoxus</i>					1		1					
no match	3	1	1		3	1	2		2			1
<b>Summe</b>	<b>12</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>16</b>	<b>11</b>	<b>35</b>	<b>3</b>	<b>11</b>	<b>2</b>	<b>18</b>	<b>8</b>

<sup>1)</sup> Entwicklungsstadien: EC 20=Jugend, EC 60=Blüte, EC 80=Reife

<sup>2)</sup> Habitate: R=Rhizosphäre, P=Phyllosphäre, RE=Endorhiza und PE=Endosphäre

**Tab. 14:** Anzahl der gegen *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani* antagonistisch wirksamen Isolate pro Bakterienart in Abhängigkeit von Vegetationsstadium und Mikrohabitat im Jahre 2002

Bakterienart	EC 20 <sup>1)</sup>				EC 60				EC 80			
	R <sup>2)</sup>	P	RE	PE	R	P	RE	PE	R	P	RE	PE
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	3								1			
<i>Bacillus cereus</i>	3											
<i>Bacillus licheniformis</i>			1									
<i>Bacillus pumilus</i>	2	52	2			2			2			
<i>Bacillus subtilis</i>		28	2			1		1				
<i>Citrobacter freundii</i>	1											
<i>Enterobacter taylorae</i>											1	
<i>Paenibacillus polymyxa</i>		1		1		1						
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	3				1	20			2			
<i>Pseudomonas corrugata</i>					2		7					
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1				1				3		1	
<i>Pseudomonas marginalis</i>	1				1							
<i>Pseudomonas putida</i>	1				2	9	14		5		10	
<i>Pseudomonas savastanoi pv. fraxinus</i>							2		2		4	
<i>Pseudomonas syringae</i>							2				2	
<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>					1							
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>					1							
<i>Streptomyces cyaneus</i>									1			
<i>Streptomyces halstedii</i>					1							
<i>Streptomyces lavendulae</i>									1			
<i>Streptomyces rochei</i>	1											
<i>Streptomyces violaceusniger</i>					1							
no match	2	1			6				5		2	
<b>Summe</b>	12	88	5	1	17	33	25	1	22	0	20	0

<sup>1)</sup> Entwicklungsstadien: EC 20=Jugend, EC 60=Blüte, EC 80=Reife

<sup>2)</sup> Habitate: R=Rhizosphäre, P=Phyllosphäre, RE=Endorhiza und PE=Endosphäre

## 2.4 Diskussion

Die Untersuchungen der Populationsdichten kartoffelassoziierter Bakterien zeigten, dass Unterschiede zwischen den Habitaten Rhizosphäre, Phyllosphäre, Endosphäre und Endorhiza auftraten, und sich die Anzahl der Bakterien im Laufe der Vegetationsperiode veränderte.

Schon die Wahl des Kulturmediums hat einen entscheidenden Einfluss auf die Bestimmung der Populationsdichten und die spätere Charakterisierung der Bakterienpopulationen und ist bei der Interpretation der Ergebnisse zu berücksichtigen. Unterschiedliche Nährstoffzusammensetzungen von Kulturmedien begünstigen bzw. hemmen das Wachstum bestimmter Bakterienarten [BACON & HINTON 1997]. ELVIRA-RECUENCO und VAN VUURDE [2000] untersuchten verschiedene Nährmedien, die von MCINROY und KLOPPER [1995a] beschrieben wurden, und fanden signifikant höhere Populationsdichten auf 5 % TSA als auf R2A-Agar. In den vorliegenden Untersuchungen wurde dennoch das nährstoffarme Medium R2A für oligotrophe Bakterien verwendet, um auch langsam wachsende Bakterien erfassen zu können und ein möglichst breites Spektrum an Mikroorganismen zu erhalten. Dadurch sollte die Bandbreite und die Anzahl antagonistischer Isolate, die im Laufe der Arbeit sowohl gegen die pilzlichen Schaderreger *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani* als auch gegen den Wurzelgallennematoden *Meloidogyne incognita* (Kapitel 3) selektiert und getestet werden sollten, erhöht werden.

### 2.4.1 Lebendkeimzahl

Die Dichte der Bakterienpopulationen in den verschiedenen Habitaten unterliegt einer gewissen Dynamik und kann sich von Jahr zu Jahr deutlich unterscheiden [SIDDIQUI & SHAUKAT 2003]. Jedoch zeichnete sich ein gemeinsamer Trend für jedes einzelne Habitat ab, wobei die Dichte der Bakterien durchaus deutlich zwischen den verschiedenen Habitaten und auch über die Vegetationsperiode variierte. Mit Ausnahme der Rhizosphäre stieg die Anzahl der Bakterien sowohl in 2001 als auch in 2002 vom Jugendstadium bis zur Reife kontinuierlich an. Demgegenüber war in der Rhizosphäre die Populationsdichte mit  $10^8$  cfu/g Frischmasse in 2001 bzw.  $10^7$  cfu/g Frischmasse in 2002 am höchsten und blieb im Verlauf der Vegetationsperiode relativ konstant. In der Phyllosphäre stiegen die Werte von durchschnittlich  $10^4$  auf  $10^7$  cfu/g Frischmasse, in der Endorhiza von  $10^3$  auf  $10^5$  cfu/g Frischmasse und in der Endosphäre von  $10^2$  auf  $10^4$  cfu/g Frischmasse.

Beim Vergleich der Ergebnisse mit anderen Studien konnten ähnliche Tendenzen beobachtet werden.

### **Rhizosphäre**

Auch KRECHEL et al. [2002] fanden in der Rhizosphäre der Kartoffel die höchste Bakteriendichte mit  $5,2 \times 10^7$  cfu/g Frischmasse, in der Endosphäre dagegen die niedrigste Dichte mit  $6,4 \times 10^3$  cfu/g Frischmasse. In der Rhizosphäre von Freilandgurken [MAHAFFEE & KLOEPPER 1997a], verschiedenen Bohnenarten und Roggen [KLOEPPER et al. 1991] fand man Populationsdichten zwischen  $10^8$  und  $10^9$  cfu/g Frischmasse. Im Laufe der Vegetationsperiode war in der Rhizosphäre von Kartoffeln nur im Jahr 2002 ein leichter Anstieg der Keimzahlen von  $3,3 \times 10^7$  cfu/g Frischmasse im Jugendstadium auf  $6,1 \times 10^7$  cfu/g Frischmasse in der Reife zu erkennen. MAHAFFEE und KLOEPPER [1997a] beobachteten dagegen am Anfang der Vegetationsperiode in der Rhizosphäre von Freilandgurken eine signifikant höhere Populationsdichte als am Ende. Die Unterschiede in der Keimzahl der Rhizosphäre zwischen den Jahren 2001 und 2002 sind vermutlich auf abiotische Einflussgrößen zurückzuführen. Die kühle und feuchte Witterung im Jahr 2001 kann eine Ursache für die höheren Populationsdichten in der Rhizosphäre sein. So wirken sich z.B. kühlere Temperaturen positiv auf die Populationsdichte in der Kartoffelrhizosphäre aus [BEAUCHAMP et al. 1993, BOWERS & PARKE 1993]. Die Wasserperkolatation führt zu einer verbesserten Kolonisierung der Bakterien an Wurzelspitzen und dient zur Verbreitung und Transport im Boden [BAHME & SCHROTH 1987, BOWERS & PARKE 1993, BENZIRI et al. 2001].

### **Phyllosphäre**

In der Phyllosphäre von Zuckerrüben [THOMPSON et al. 1993] und Sommerweizen [LEGARD et al. 1994] konnten Populationsdichten von  $10^6$ – $10^8$  cfu/g Frischmasse beobachtet werden. Ein Ansteigen der Bakteriendichte zum Ende der Vegetationsperiode beobachteten auch THOMPSON et al. [1993] auf den Blättern von Zuckerrüben. Dagegen konnten JACOBS und SUNDIN [2001] in ihren Untersuchungen an Erdnuss einen Rückgang der Bakteriendichte nachweisen. Sie führten dies auf die intensive UV-Strahlung im Laufe der Vegetationsperiode zurück. Inwieweit die Populationsdichten sich in der Phyllosphäre erhöhen oder verringern hängt insbesondere von den klimatischen Bedingungen ab. Hohe Temperaturschwankungen zwischen Tag und Nacht, intensive UV-Strahlung, ein geringes Nährstoffangebot und zum Teil hohe Salzgehalte sind Stressfaktoren, unter denen nur wenige Mikroorganismen hohe Populationsdichten etablieren können [HIRANO & UPPER 2000]. Die Größe und die Beschaffenheit der Bakterienpopulationen der Phyllosphäre wird durch das Zusammenwirken von den Blatteigenschaften der spezifischen Pflanzenart und der Umwelt beeinflusst [DICKINSON 1986]. Die Zusammensetzung der Nährstoffe wie

Carbohydrate, organische Säuren sowie Aminosäuren ist abhängig von der Pflanzenart, dem Blattalter, dem physiologischen Zustand des Blattes und eventuellen Beschädigungen durch Wunden oder Schaderreger [JAEGER et al. 1999]. Auch der Nährstoffefflux aus alternden bzw. absterbenden Blättern kann den Anstieg der Keimzahlen in der Phyllosphäre und in der Endosphäre zum Ende der Vegetationsperiode fördern [LAST & DEIGHTON 1965].

### **Endorhiza und Endosphäre**

Ähnlich wie in den vorliegenden Untersuchungen zeichneten sich auch die endophytischen Habitate anderer Pflanzenarten durch geringere Bakteriendichten als die der Rhizo- und Phyllosphäre aus. So fanden MCINROY und KLOPPER [1994] z. B. in Wurzel und Spross von Baumwoll- und Süßmaispflanzen Bakteriendichten von  $10^4$  bis  $10^6$  cfu/g Frischmasse, GAGNÉ et al. [1987]  $10^3$ - $10^4$  cfu/g Frischmasse im Xylem von Luzerne, und SHISHIDO et al. [1995] ermittelten Populationsdichten von  $10^5$  cfu/g Wurzelfrischmasse bei Pinien-Keimlingen. In Kartoffelknollen fanden STURZ et al. [1998] Populationsdichten von  $10^2$ - $10^3$  cfu/g Frischmasse, GARBEVA et al. [2000] fanden in den Stängeln und der Wurzel von Kartoffeln  $10^3$ - $10^5$  cfu/g Frischmasse. Wie auch schon andere Studien zeigten, war die Dichte der endophytischen Bakterienpopulationen in der Wurzel am größten und nahm akropetal zum Blatt hin ab [QUADT-HALLMANN & KLOPPER 1996, ELVIRA-RECUENCO & VAN VUURDE 2000]. Die geringere Bakteriendichte in der Endosphäre führt HALLMANN [2001] auf suboptimale Lebensbedingungen in diesem Habitat zurück, die durch starke Schwankungen von Temperatur, Wassergehalt, Nährstoffverfügbarkeit und UV-Strahlung bestimmt werden [HIRANO & UPPER 2000]. Dagegen stellt das Wurzelsystem einen besser gepufferten Lebensraum in bezug auf die Wasserverfügbarkeit und die Temperaturschwankungen dar. Wurzelexsudate sorgen für einen reichhaltigen und gleichmäßigen Nährstofffluss in die Rhizosphäre. Dieser ermöglicht die Etablierung höherer Rhizosphärenpopulationen und ist damit wahrscheinlich für eine stärkere Besiedlung der Endorhiza verantwortlich. Die Höhe der Populationsdichte endophytischer Bakterien scheint jedoch in den jeweiligen Habitaten begrenzt zu sein. Im Vergleich zu pathogenen Bakterien, deren Dichte zwischen  $10^8$  und  $10^{10}$  cfu/g Frischmasse betragen kann, fanden STURZ et al. [1997] im Wurzelgewebe von Rotklee eine deutlich niedrigere Populationsdichte der Endophyten von  $10^5$  cfu/g Frischmasse. Scheinbar muss die Dichte endophytischer Bakterien auf einem niedrigen Niveau gehalten werden, um nicht durch Verstopfung der Xylemgefäße oder durch eine verstärkte Aufnahme von Phytoassimilaten zu einer Schädigung der Pflanze zu führen [HALLMANN 2001].

Eine Steigerung der Bakterienkeimzahl in der Endorhiza im Laufe der Vegetationsperiode wurde auch von MAHAFFEE und KLOEPPER [1997a, 1997b] an Freilandgurken nachgewiesen. Die Rhizosphäre scheint die primäre Eintrittspforte für die Besiedlung der Endorhiza darzustellen [HALLMANN 2001]. Untersuchungen zeigten, dass Bakterien sowohl über natürliche Öffnungen und Wunden, die z. B. durch das Wurzelwachstum oder durch Seitenwurzelbildung entstanden sind, als auch aktiv durch Auflösung der Zellwand mittels cellulytischer Enzyme in die Wurzel gelangen können [BENHAMOU et al. 1996, QUADT-HALLMANN et al. 1997, JAMES & OLIVARES 1998]. Einige Autoren beobachteten eine starke Kolonisierung der Seitenwurzelzone durch Endophyten [REINHOLD & HUREK 1988, WIEHE et al. 1994, LAMB et al. 1996, MAHAFFEE et al. 1997c]. Die Ausbildung eines stark verzweigten Wurzelsystems mit zunehmendem Reifegrad der Kartoffel steigert vermutlich die Kolonisierung und damit die Populationsdichte in der Endorhiza.

Die Besiedlung der pflanzlichen Mikrohabitate und die Veränderung der Populationsdichte und des Bakterienspektrums im Laufe der Vegetationsperiode hängt entscheidend von biotischen und abiotischen Faktoren ab, die im weiteren Verlauf der Arbeit ausführlich diskutiert werden.

#### **2.4.2 Charakterisierung des Bakterienspektrums**

Die Charakterisierung des Bakterienspektrums in der vorliegenden Arbeit beruhte auf der Analyse kultivierbarer Bakterien, da diese sich im Hinblick auf den möglichen Einsatz im biologischen Pflanzenschutz einfacher und schneller vermehren lassen. Es wird vermutet, dass nur ca. 5 % der vorkommenden Bakterien überhaupt kultivierbar sind [HEMMING 1990, BAKKEN 1997]. Kultivierungsunabhängige Analyseverfahren wie die 16S rDNA-Analyse der Bakterienpopulationen durch Temperatur-Gradienten-Gel-Elektrophorese oder Denaturierende-Gel-Gradienten-Gel-Elektrophorese (TGGE/DGGE) und terminale Restriktions-Fragment-Längen-Polimorphismus-Analysen (RFLP) erfassen zusätzlich auch nicht kultivierbare Bakterien und können zu einer Verschiebung der Abundanz und der Diversität in den Bakterienpopulationen der Pflanzenhabitate führen [HEUER & SMALLA 1997, SESSITSCH et al. 2002]. So fanden z. B. YANG et al. [2001] durch die 16S rDNA-Analyse der Bakterienpopulation der Phyllosphäre an verschiedenen Kulturpflanzen ein völlig anderes Bakterienspektrum als bei Anwendung kultivierungsabhängiger Analysen. Aussagen über die Bakterienstruktur und die Zusammensetzung der Bakterienpopulationen der Kartoffel beziehen sich also nur auf einen kleinen Teil des Bakterienspektrums. Auch der Stichprobenumfang spielt bei der Charakterisierung des Bakterienspektrums eine große Rolle [MAHAFFEE & KLOEPPER 1997b]. Ist er zu gering, können selten auftretende Gattungen nicht erfasst werden, die normalerweise einen festen Bestandteil der Bakterienpopulation

darstellen. Die Interpretation der vorliegenden Ergebnisse stützt sich auf einen Stichprobenumfang von 30 Isolaten pro Habitat, wobei berücksichtigt werden muss, dass möglicherweise nicht alle, vor allem selten vorkommende Gattungen, durch die Stichproben erfasst werden. Das Spektrum und die Struktur der Bakterienpopulationen sind oft sehr viel komplexer, als sie durch die angewandte Methode dargestellt bzw. geschätzt werden können.

Untersuchungen ökologischer Parameter wie Populationsstruktur, Kolonisierung und Vermehrung von Bakterienpopulationen wurden an verschiedenen Kulturpflanzen wie z. B. Freilandgurken [MAHAFFEE & KLOEPPER 1997a], Kartoffeln [STURZ 1995, STURZ & MATHESON 1996, STURZ 1999], Erbsen [ELVIRA-RECUENCO & VAN VUURDE 2000], Raps und Weizen [SICILIANO et al. 1998], Baumwolle [MISHAGI & DONNDELINGER 1990, MCINROY & KLOEPPER 1995a+b] und Gräsern [STURZ et al. 2001] ausschließlich für die Rhizosphäre und Endorhiza durchgeführt. Die vorliegenden Untersuchungen zeigten, dass nicht nur die unterirdischen Habitate der Kartoffel [MAHAFFEE & KLOEPPER 1997a, SICILIANO et al. 1998], sondern auch die oberirdischen Habitate Phyllosphäre und Endosphäre eine ganz eigene Bakterienstruktur aufweisen.

### **Rhizosphäre/Endorhiza**

In den vorliegenden Untersuchungen waren die dominanten Bakteriengattungen der Rhizosphäre *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Sphingobacterium* und *Stenotrophomonas*, die der Endorhiza *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* und *Stenotrophomonas*. Ihre Abundanzen veränderten sich im Laufe der Vegetationsperiode. So sanken in der Rhizosphäre die Anteile an *Pseudomonas* über die Zeit, während die an *Bacillus* anstiegen. In der Endorhiza kam es dagegen zu einer kontinuierlichen Verdrängung von *Bacillus* durch *Pseudomonas* vom Beginn bis zum Ende der Vegetationsperiode. In Studien mit verschiedenen Kulturpflanzen wurden teilweise ähnliche dominante Gattungen gefunden. STURZ et al. [2001] beobachteten in der Rhizosphäre von Gräsern hauptsächlich die Gattungen *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* und *Stenotrophomonas*. MAHAFFEE und KLOEPPER [1997a] fanden in der Rhizosphäre von Freilandgurken die dominanten Bakteriengattungen *Agrobacterium*, *Bacillus* und *Pseudomonas*, in der Endorhiza die Gattungen *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Stenotrophomonas* und *Pseudomonas*. Ebenfalls wurde in der Endorhiza eine Verdrängung von *Bacillus* durch *Pseudomonas* und zusätzlich durch *Stenotrophomonas* gegen Ende der Vegetationsperiode festgestellt [MAHAFFEE & KLOEPPER 1997b].

Das Spektrum der dominanten Bakteriengattungen der Kartoffel war in Rhizosphäre und Endorhiza sehr ähnlich. Der Anteil von 53–54 % der Bakteriengattungen der Endorhiza, die auch in der Rhizosphäre auftraten, lässt vermuten, dass diese Habitate durch Interaktionen und Austausch miteinander in Verbindung stehen. Eine enge Beziehung zwischen Endorhiza und Rhizosphäre konnte auch von einigen anderen Autoren beobachtet werden [MCINROY & KLOEPPER 1995b, LILLEY et al. 1996, GERMIDA et al. 1998]. HALLMANN et al. [1999] konnten in Versuchen mit Baumwolle 82 % der Bakterienarten der Endorhiza auch in der Rhizosphäre wiederfinden. MAHAFFEE und KLOEPPER [1997a] fanden bei Freilandgurken sogar Übereinstimmungen von 94 % zwischen dem Bakterienspektrum der Endosphäre und der Rhizosphäre.

Die Diversität der Bakterienpopulationen in der Rhizosphäre und Endorhiza folgte in den vorliegenden Untersuchungen in beiden Versuchsjahren einem ähnlichen Trend. Sie war in der Rhizosphäre am höchsten, wobei sie hier vom Jugendstadium bis zur Reife hin kontinuierlich sank. Die Endorhiza wies dagegen die geringste Diversität auf, wobei hier die niedrigsten Index-Werte (R1, N1, N2) im Stadium der Blüte zu beobachten waren. Die Verteilung der Bakterienisolate in der Endorhiza beschränkte sich auf 2–4 dominante Gattungen, während in der Rhizosphäre 5–7 dominante Gattungen mit einem Anteil von über 6 % zu finden waren. MAHAFFEE und KLOEPPER [1997a] konnten bei der Analyse der Diversität von Bakterienpopulationen der Rhizosphäre und der Endorhiza an Freilandgurken ebenfalls eine signifikant geringere Diversität in der Endorhiza als in der Rhizosphäre feststellen. Sie beschrieben 1–2 dominante Gattungen in der Endorhiza, dagegen 5–6 dominante Gattungen in der Rhizosphäre. Die Diversität in den Habitaten Rhizosphäre und Endosphäre zeigte in Studien mit unterschiedlichen Kulturpflanzen ähnliche Trends in Abhängigkeit von der Vegetationsperiode, während die Abundanzen der einzelnen Gattungen eine hohe Variabilität in bezug auf die Pflanzenart zeigten. Auch die Abundanzen phylogenetischer Gruppen von Bakterien scheinen von der Pflanzenart bestimmt zu werden. In den vorliegenden Untersuchungen machte der Anteil gram-negativer Bakterien in der Endorhiza der Kartoffel gegen Ende der Vegetationsperiode zwischen 50 % und 60 % aus. Im Gewebe von Maiswurzeln lag der Anteil bei 70 % [MCINROY and KLOEPPER 1995b], in Wurzeln von Baumwolle sogar bei 100 % [HALLMANN 1998].

Für viele Autoren ist die Pflanzenart der wichtigste Einflussfaktor für die Etablierung eines spezifischen Spektrums kultivierbarer Bakterien in den verschiedenen Habitaten [MILLER et al. 1989, LEMANCEAU et al. 1995, GERMIDA et al. 1998, GRAYSTON et al. 1998, BERG et al. 2000a, MIETHLING et al. 2000, EL ARAB et al. 2001]. Auch Mikrohabitat und Vegetationsperiode beeinflussen das Spektrum der Bakterienpopulationen. Die Autoren



MAHAFFEE und KLOEPPER [1997b] vermuten, dass in den Bakterienpopulationen zwei Arten der Selektion stattfinden. In jedem Habitat wird zunächst eine speziell adaptierte Bakteriengemeinschaft selektiert, aus der dann in Abhängigkeit vom Vegetationsstadium bestimmte Gattungen begünstigt und gefördert werden. HALLMANN [2001] und MAHAFFEE und KLOEPPER [1997a] beschreiben ebenfalls die Endorhiza als physiologische Selektionsbarriere, die sich im zeitlichen Verlauf der Vegetationsperiode verändert. Wurzelexsudate der Pflanzen, bestehend aus Aminosäuren, Zucker und organische Säuren, stellen eine reichhaltige Nährstoffquelle für Bakterien dar und machen so die Rhizosphäre zu einer Zone intensiver mikrobieller Aktivität [BOWEN & ROVIRA 1999]. Die Zusammensetzung der Wurzelexsudate variiert in Abhängigkeit von der Pflanzenart und dem Vegetationsstadium der Pflanze und bestimmt die Populationsdynamik der Bakterien [JAEGER et al. 1999]. So kann eine Veränderung des Bakterienspektrums in der Rhizosphäre auch zu einer Veränderung in der Endorhiza führen. Inter- und intraspezifische Konkurrenz der Bakteriengattungen kann zusätzlich das Bakterienspektrum beeinflussen [QUADT-HALLMANN et al. 1997b, HALLMANN 2001]. Durch Wurzelexsudate geförderte Bakteriengattungen treten mit den übrigen Gattungen in starke Konkurrenz um Nahrung und Lebensraum [KLOEPPER et al. 1997]. Hohe Populationsdichten dieser Bakterien in der Rhizosphäre am Anfang der Vegetationsperiode erhöhen die Wahrscheinlichkeit der dominanten Kolonisierung der Endorhiza über natürliche epidermale Öffnungen und Wunden [MAHAFFEE & KLOEPPER 1997a, QUADT-HALLMANN et al. 1997b]. HALLMANN [2001] beschreibt für die Rhizosphäre die first-come first-served Strategie. Kartoffelwurzeln, die mit *Rhizobium etli* G12 drei Tage vor *Bacillus sphaericus* inokuliert wurden, zeigten nach sieben Tagen *R. etli* als dominantes Bakterium an den Wurzeln, wohingegen bei umgekehrter Inokulation *R. etli* nicht nachzuweisen war. Auch physikalische und chemische Faktoren wie pH-Wert, Salzkonzentration und Bodentextur und auch die Beschaffenheit des Bodensubstrates beeinflussen durch die Veränderung der Populationszusammensetzung in der Rhizosphäre das Spektrum potenzieller Endophyten der Endorhiza [QUADT-HALLMANN & KLOEPPER 1996, HALLMANN et al. 1997a]. Die Besiedler der Endorhiza sind demnach sowohl biotischen als auch abiotischen Einflüssen ausgesetzt und nur wenige, an die Bedingungen adaptierte bzw. konkurrenzfähige Bakteriengattungen besitzen scheinbar die Fähigkeit zur endophytischen Kolonisierung. Die Kolonisierung der Wurzel ist bei manchen Bakterien auch abhängig vom Pflanzenalter bzw. Phänotyp. SHISHIDO et al. [1995] fanden z.B. einen endophytischen *Bacillus*-Stamm, der erst 4 Wochen nach der Keimung, im Stadium der Lateralwurzelbildung, in der Lage war, die Endorhiza zu besiedeln.

### Phyllosphäre/Endosphäre

Der Anteil der Bakteriengattungen in der Endosphäre, die auch in der Phyllosphäre auftraten, lag bei 53–54 %. Das Spektrum der dominanten Bakteriengattungen in der Phyllosphäre und Endosphäre zeigte jedoch größere Unterschiede als das in der Rhizosphäre und Endorhiza. Dies deutet auch hier auf Interaktion zwischen diesen beiden Habitaten hin. Die dominanten Gattungen in der Phyllosphäre waren *Bacillus*, *Pseudomonas* und *Arthrobacter*, die in der Endosphäre *Bacillus*, *Curtobacterium*, *Pseudomonas* und *Micrococcus*. Die vergleichsweise hohe Diversität in der Endosphäre im Gegensatz zur Phyllosphäre deutete auf einen höheren Anteil dominanter Bakteriengattungen in der Endosphäre und auf eine hohe Abundanz weniger dominanter Gattungen in der Phyllosphäre hin. In der Phyllosphäre waren 2–4 dominante Gattungen, in der Endosphäre 6–7 dominante Gattungen mit einem Anteil von > 6 % zu finden.

In der Phyllosphäre von Zuckerrüben fanden THOMPSON et al. [1993] hauptsächlich *Pseudomonas* und *Erwinia*. JURKEVITCH und SHAPIRA [2000] identifizierten auf Tomatenblättern vor allem *Curtobacterium*, *Micrococcus* und *Pseudomonas* und konnten, wie auch andere Autoren an Zuckerrüben [THOMPSON et al. 1993], Oliven [ERCOLANI 1991] und Sojabohnen [SALERNO et al. 1997] zeigten, ebenfalls eine geringe Diversität in der Phyllosphäre feststellen. In der Endosphäre von Erbsen fanden ELVIRA-RECUENCO und VAN VUURDE [2000] hauptsächlich *Pseudomonas*, *Pantoea* und *Bacillus*. Untersuchungen an Kartoffelknollen [STURZ et al. 1998] zeigten, dass sich das endophytische Bakterienspektrum sowohl aus dominanten Gattungen des endophytischen Spektrums der Blätter als auch der Wurzeln zusammensetzt. Sie fanden in Kartoffelknollen bei Populationsdichten von  $9 \times 10^2$  cfu/g Knollengewebe, ähnlich der Dichte in der Endosphäre, als dominante Gattung *Pseudomonas*. In anderen Versuchen dominierten unabhängig von der Kartoffelsorte *Curtobacterium* und *Pseudomonas* [STURZ et al. 1999] bzw. *Pseudomonas*, *Bacillus* und *Xanthomonas* in jungen Kartoffelknollen [STURZ 1995]. GARBEVA et al. [2001] nutzten bei ihren Untersuchungen kultivierungsabhängige und -unabhängige Methoden und konnten als dominante Gattungen *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Stenotrophomonas* und *Flavobacterium* beschreiben. Die im Vergleich zur Phyllosphäre erhöhte Diversität in der Endosphäre, die in den vorliegenden Untersuchungen beobachtet werden konnte, konnte ebenfalls von STURZ et al. [1997] an Rotklee festgestellt werden.

Im Laufe der Vegetationsperiode veränderten sich auch in den oberirdischen Habitaten die Abundanzen der Bakteriengattungen. So nahm zum Beispiel in der Phyllosphäre der Anteil der Gattung *Bacillus* im Laufe der Vegetationsperiode ab. Ein Rückgang der Gattung *Bacillus* über die Zeit wurde auch in der Phyllosphäre von Zuckerrüben [THOMPSON et al. 1993]

Sojabohnen [ARIAS et al. 1999] und Erdnuss [JACOBS & SUNDIN 2001] festgestellt. In der Endosphäre wurden die Gattungen *Bacillus* und *Micrococcus* durch den kontinuierlichen Anstieg der Gattung *Curtobacterium* zum Ende der Vegetationsperiode verdrängt. Auch nicht dominante Gattungen zeigten zu bestimmten Vegetationsstadien starke Abundanzen in einzelnen Habitaten, waren in den anderen Stadien aber kaum nachweisbar. Die Diversität der Bakterienpopulationen variierte im Laufe der Vegetationsperiode vor allem in der Phyllosphäre sehr stark.

Die hohe Variabilität in der Populationsstruktur, aber auch die extremen Schwankungen in der Diversität im Laufe beider Versuchsjahre vor allem in der Phyllosphäre, lassen eine sehr viel stärkere Beeinflussung der oberirdischen Habitate durch abiotische Faktoren wie UV-Strahlung, Nährstoff- und Wasserverfügbarkeit, Temperaturschwankungen, Salzstress etc. vermuten, als es bei den unterirdischen Habitaten der Fall zu sein scheint. Die Zusammensetzung der Bakterienpopulationen wird durch das Nährstoffangebot bestimmt, das sich im Laufe der Vegetationsperiode verändert und schon allein von Blatt zu Blatt unterschiedlich sein kann [HIRANO & UPPER 1989, LINDOW 1996, KINKEL 1997, ELLIS et al. 1999, KINKEL et al. 2000]. Hierbei spielen Nahrungsressourcen in Form von Fructose und/oder Sucrose, von denen das Wachstum der Populationen in der Phyllosphäre abhängt, eine große Rolle [LEVEAU & LINDOW 2001]. Das Austreten von Pflanzensaft aus Wunden, die durch Schädlinge [STADLER & MÜLLER 2000] oder Frost [HIRANO & UPPER 2000] verursacht werden können, aber auch der natürliche Austritt geringer Mengen von Metaboliten, wie Carbohydraten, organischen Säuren und Aminosäuren aus gesunden Blättern, beeinflusst die Besiedlung und das Überleben der Bakterien auf der Blattoberfläche [DERRIDJ 1996]. Auch durch frei werdende Exsudate von seneszierenden Blättern, vor allem gegen Ende der Vegetationsperiode, können einige Gattungen gefördert bzw. unterdrückt werden [LAST & DEIGHTON 1965]. Die Menge dieser austretenden Nährstoffe ist wiederum abhängig von verschiedenen Faktoren wie Pflanzenart, Blatteigenschaften wie Befeuchtungsgrad, Wachsschicht und Alter sowie Dauer und Intensität von Regen und Tau [TUKEY 1970].

Die Besiedlung der Blattoberfläche erfolgt hauptsächlich um natürliche Öffnungen wie Stomata, in Vertiefungen entlang der Blattvenen und der Kutikula sowie an der Basis von Trichomen [MANSVELT & HATTINGH 1987, MARIANO & MCCARTER 1993]. Da die Besiedlung der Phyllosphäre nicht gleichmäßig über die gesamte Blattoberfläche erfolgt [WELLER & SAETTLER 1980, KINKEL et al. 1995], wird angenommen, dass die Verfügbarkeit und auch die Verwertbarkeit der Nährstoffe teilweise stark eingeschränkt ist. Sie ist also nicht über die gesamte Vegetationsperiode gleichmäßig gegeben, was sich somit auch auf die Struktur der Phyllosphärebesiedler auswirken kann [LEVEAU & LINDOW 2000]. Die Entwicklung und das

Überleben der Phyllosphärebakterien während der Vegetationsperiode ist abhängig von den Toleranzstrategien, die sie gegen die extremen und schnell wechselnden Bedingungen auf der Blattoberfläche entwickelt haben [LINDOW 1991, BEATTIE & LINDOW 1994]. Beispielsweise sind manche Mikroorganismen in der Lage, Pigmente zum Schutz vor schädlicher UV-Strahlung zu bilden [SUNDIN & JACOBS 1999], andere bilden extrazelluläre Polysaccharide zum Schutz vor Austrocknung [OPHIR & GUTNICK 1994, YU et al. 1999]. Manche Bakterien besiedeln geschützte Nischen, die gegenüber den exponierten Stellen des Blattes extreme Bedingungen besser abpuffern können [LEBEN 1981]. Extreme Klimabedingungen haben daher neben Pflanzenart, Blattalter und -physiologie sowie Befall mit Schaderregern, einen sehr starken Einfluss auf das Bakterienspektrum der Phyllosphäre und seine Veränderung im Laufe der Vegetationsperiode und beeinflussen somit auch indirekt das Bakterienspektrum und die Abundanzen der Endosphäre-Besiedler [HALLMANN et al. 1997a]. Die Besiedlung der Endosphäre kann sowohl über das Blatt als auch über die Wurzel erfolgen. Einige Studien zeigten, dass die Phyllosphäre, trotz dickwandiger Epidermis und bewachster Cuticula eine wichtige Quelle für die endophytische Besiedlung darstellt [STURZ et al. 1997, BERG et al. 2002, KRECHEL et al. 2002]. Die vorliegenden Untersuchungen stützen diese Vermutung, da einige Bakteriengattungen, wie z. B. *Curtobacterium* und *Cedecea*, fast ausschließlich in der Phyllo- und Endosphäre, kaum aber in der Rhizosphäre und Endorhiza gefunden werden konnten. Der Weg der Besiedlung über die Rhizosphäre wird dagegen von HALLMANN [2001] und QUADT-HALLMANN et al. [1997a] favorisiert. Nach dem Eintritt der Bakterien in die Endorhiza werden sie akropetal über die Leitgefäße in das Spross- und Blattgewebe transportiert.

Für die endophytischen Habitate konnte im Hinblick auf die Veränderungen des Bakterienspektrums und der Diversität im Laufe der Vegetationsperiode eine höhere Kontinuität zwischen den Versuchsjahren festgestellt werden als für die Rhizosphäre und Phyllosphäre. Die Veränderungen in der Diversität (R1, N1, N2) waren sehr gering und zeigten sowohl in 2001 als auch in 2002 gleiche Tendenzen. Starke Schwankungen der Diversitäten in der Rhizosphäre und Phyllosphäre wirkten sich kaum auf die Diversität in den endophytischen Habitaten aus. Dies impliziert eine hohe Stabilität und Kontinuität endophytischer Lebensräume durch eine kontinuierliche Nährstoff- und Wasserversorgung und den Schutz vor schädlichen physikalischen und chemischen Einflüssen [HALLMANN 2001, HALLMANN et al. 1997a]. HALLMANN [2001] vermutet jedoch, dass die Besiedler der Endosphäre durch ihre exponierte Lage im Blatt abiotischen Stressfaktoren dennoch stärker ausgeliefert sind als die Besiedler der Endorhiza.

Durch die Veränderung der physiologischen Prozesse in der Pflanze werden in den einzelnen Habitaten im Laufe der Vegetationsperiode unterschiedliche Bakteriengemeinschaften selektiert [MAHAFFEE & KLOEPPER 1997a]. In den vorliegenden Untersuchungen deuten die Veränderungen der Bakterienabundanzen in der Phyllosphäre jedoch auf einen eher umweltbedingten Einfluss hin. Bei den untersuchten Blättern handelte es sich um einen Pool aus den verschiedensten Blattetagen und damit aus unterschiedlichen physiologischen Blattschichten, so dass physiologische Prozesse, die das Bakterienspektrum in der Phyllosphäre beeinflussen können, hier vermutlich eher eine untergeordnete Rolle spielen.

### **2.4.3 Bakterienisolate mit antagonistischer Wirkung gegen pilzliche Schaderreger**

Mit der Charakterisierung kartoffelassoziierter Bakterien sollten an der Kartoffel natürlich vorkommende Antagonisten für eine spätere biologische Bekämpfung bodenbürtiger Schaderreger gefunden werden. Zur Überprüfung der antagonistischen Wirkung gegen *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani* wurde der Dualkulturtest gewählt, da Gewächshausversuche aufgrund der hohen Anzahl zu untersuchender Isolate einen zu hohen Arbeits- und Zeitaufwand dargestellt hätten.

Die Anteile antagonistisch wirksamer Bakterienisolate variierten sowohl zwischen den Mikrohabitaten als auch im Laufe der Vegetationsperiode. Der höchste Anteil antagonistischer Bakterienisolate gegenüber *V. dahliae* und *R. solani* zeigte sich in der Rhizosphäre und Endorhiza, also den potenziellen Infektionsorten dieser pathogenen Pilze. In der Rhizosphäre lag der Anteil antagonistischer Isolate über die Vegetationsperiode hinweg relativ konstant bei 10–12 %. In der Endorhiza wurde hingegen ein maximaler Anteil von 25 % in der Blüte beobachtet, wohingegen zur Reife der prozentuale Anteil bei 14 % (2001) bzw. 15 % (2002) lag. Damit bestätigten die Ergebnisse des Dualkulturtests grundsätzlich die Aussage von WELLER et al. [1985], dass die meisten effektiven antagonistischen Isolate hauptsächlich aus den Geweben isoliert werden, wo sie ihre Wirkung entfalten sollen. KRECHEL et al. [2002] konnten bei ihren Untersuchungen ebenfalls die höchsten Anteile an Antagonisten von 10 % in der Rhizosphäre und 9 % in der Endorhiza im Stadium der Reife beobachten.

Ein Großteil der Bakterienisolate, die antagonistische Wirkung zeigten, gehörte zu den dominanten Gattungen *Bacillus* und *Pseudomonas*. Insgesamt wurde eine antagonistische Wirkung bei folgenden Arten festgestellt: *Bacillus pumilus*, *B. subtilis*, *Pseudomonas putida*, *P. corrugata*, *P. fluorescens*, *P. chlororaphis*, *Curtobacterium citreum*, *C. flaccumfaciens* und *Agrobacterium radiobacter*. Ähnliche Untersuchungen wurden von BERG und BALLIN [1994]

durchgeführt. Sie konnten aus der Rhizosphäre von *V. dahliae*-Wirtspflanzen hauptsächlich *Bacillus subtilis* und *Pseudomonas fluorescens* als Antagonisten nachweisen. Die Tendenzen in bezug auf den prozentualen Anteil und die Veränderung der Antagonisten im Laufe der Vegetationsperiode waren in Rhizosphäre, Endorhiza und Endosphäre in beiden Jahren ähnlich. Starke Schwankungen in der Abundanz antagonistischer Isolate zeigten sich jedoch in der Phyllosphäre. In 2001 ging der prozentuale Anteil an Antagonisten über ein Maximum in der Blüte von 9,2 % nicht hinaus. In 2002 dagegen betrug der Anteil Antagonisten in der Jugendentwicklung 73,9 %, fiel zur Blüte auf 27,5 % und zur Reife unterhalb der Nachweisgrenze ab.

Die Veränderung des antagonistischen Potenzials in den einzelnen Habitaten geht scheinbar mit der Veränderung des Bakterienspektrums im Laufe der Vegetationsperiode einher. So, wie veränderte physiologische und chemische Prozesse innerhalb bzw. außerhalb der Pflanze die Populationsstruktur aller Bakterien beeinflussen, haben sie möglicherweise auch einen Einfluss auf die antagonistischen Bakterien [HALLMANN 1997, REITER et al. 2002]. STURZ et al. [1999] vermuten, dass die antagonistische Aktivität von Bakterien sowohl vom Gewebeort als auch vom Gewebetyp abhängig ist. Sie fanden die höchste antibiotische Wirkung gegen *Fusarium* spp. und *Phytophthora infestans* bei den Bakterien in der äußersten Schicht von Kartoffelknollen. Zum Knolleninneren nahm sowohl der Anteil antagonistischer Bakterien als auch deren antibiotische Wirkung ab.

Lokalisation und Abundanz der Antagonisten in den Habitaten zu bestimmten Vegetationsstadien der Kartoffel können ein Hinweis darauf sein, dass das Auftreten von Antagonisten vom Vegetationsstadium bzw. vom Infektionszeitpunkt des Pathogens abhängt. Als Erreger der Wurzeltöterkrankheit infiziert *R. solani* die Pflanze schon früh in der Jugendentwicklung und verursacht beim Auflaufen braun verfärbte, von der Spitze her absterbende Triebe, außerdem ein Verbräunen und Einrollen der Blätter und ein Vermorschen des Stängelgrundes. An jungen Knollen kommt es zu Einschnürungen und Entwicklungsstörungen. Die vorliegenden Ergebnisse zeigten, dass in beiden Jahren die antagonistischen Isolate, die überwiegend gegen den Erreger *R. solani* aktiv waren, im Jugendstadium der Kartoffel auftraten (Anhang II). Der Anteil der Antagonisten schwankte vor allem in der Phyllosphäre beachtlich. Im Gegensatz zu 2001, wo der Anteil nicht über ein Maximum von 9,2 % in der Blüte hinausging, war er in 2002 mit knapp 74 % im Jugendstadium am höchsten und fiel zur Blüte auf 27,5 % ab. Dabei zeigten im Jugendstadium überwiegend *Bacillus pumilus* und *Bacillus subtilis*, zur Blüte hingegen hauptsächlich *Pseudomonas chlororaphis*, eine antagonistische Wirkung. Der Erreger der Verticillium-Welke *V. dahliae* infiziert die Pflanze über die Wurzel erst später im Stadium der

Blüte und dringt bis zum Xylem der Gefäßbündel vor, wo es zur Störung des Wasserhaushaltes und damit zum Welken der gesamten Pflanze kommen kann. Auch in den vorliegenden Untersuchungen zeigten die meisten Antagonisten erst zum Stadium der Blüte eine Wirkung gegen *V. dahliae*. Ein Großteil der antagonistischen Isolate stammte zu diesem Vegetationsstadium aus der Endorhiza. Die Bakterienarten, die hauptsächlich in diesem Stadium eine antagonistische Wirkung zeigten, waren *Pseudomonas putida*, *P. corrugata*, *P. savastanoi* und *P. fluorescens*. Ob tatsächlich ein Zusammenhang zwischen dem Anteil an Antagonisten in den verschiedenen Habitaten und dem Infektionszeitpunkt des Pathogens besteht, bedarf weiterer Untersuchungen sowohl zum Auftreten der antagonistischen Bakterien als auch der Pathogene in den verschiedenen Vegetationsstadien. Weitere Versuchsjahre sind nötig, um genauere Aussagen über die Verteilung der Antagonisten und die Veränderung ihrer Anteile in den Habitaten im Laufe der Vegetationsperiode machen zu können.

Die Wirkungsweise der Bakterienisolate konnte in dem Forschungsvorhaben nicht geklärt werden. Die beobachtete antagonistische Aktivität im Dualkulturtest kann auf unterschiedlichen Mechanismen beruhen. Eine direkte Wirkung auf phytopathogene Pilze hat die Bildung antibiotischer Substanzen, wie z. B. die von vielen Arten der Gattung *Pseudomonas* gebildeten Phenazine, Pyrrole und Bactoboline [LEBEN et al. 1987]. Auch einige Stämme von *Bacillus subtilis* bilden antibiotische Substanzen [SCHREIBER et al. 1988, LOEFFLER et al. 1990, BERG & BALLIN 1994]. Werden die antibiotischen Substanzen auch im Pflanzengewebe exprimiert, wie z. B. durch endophytische Bakterien, dann sind diese in der biologischen Bekämpfung nicht vertretbar [BACON & HINTON 2002]. Andere Wirkungsmechanismen scheinen für die Entwicklung biologischer Präparate daher Erfolg versprechender, wie Nährstoffkonkurrenz und Parasitismus. So reduzieren Siderophoren durch Komplexbildung die Eisen(III)-Verfügbarkeit für die Pathogene [WELLER 1988], oder die Expression lytischer Enzyme kann zum Abbau der Zellwand pathogener Pilze führen [CHET et al. 1990].

Ein weiterer wichtiger Wirkungsmechanismus einiger Bakterien ist die Stimulation pflanzeigener Abwehrmechanismen [BOLLAG & STROTZKY 1990, SIDDIQUI & SHAUKAT 2002]. BERG et al. [2001] selektierten drei Rhizosphärebakterien-Isolate *Pseudomonas putida* B E2 (Erdbeere), *Pseudomonas chlororaphis* (Kartoffel) und *Serratia plymuthica* (Raps), die im Mikro-Screening den *Verticillium*-Befall an Erdbeeren signifikant reduzierten. SIDDIQUI und SHAUKAT [2002] beschrieben eine Induktion systemischer Resistenz für die Rhizosphärebakterien *Pseudomonas aeruginosa* (IE-6S<sup>+</sup>) und *P. fluorescens* (CHA0) an Tomatenpflanzen gegen *R. solani*. Auch *Xanthomonas maltophilia* verbesserte indirekt durch

die Produktion von Indoleessigsäure die Resistenz gegenüber pathogenen Pilzen [BERG & BALLIN 1994]. Der Mechanismus der systemisch induzierten Resistenz (ISR) wird durch den Dualkulturtest zwar nicht erfasst, es ist aber durchaus möglich, dass einige Bakterien über diesen Mechanismus verfügen. LIU et al. [1995] und LIU [1992] zeigten eine signifikante Korrelation zwischen der *in vitro* Hemmung des Erregers des Kartoffelschorfes durch verschiedene *Streptomyces*-Isolate und ihrer erfolgreichen biologischen Bekämpfung *in vivo*. Demgegenüber stellten SCHOTTEL et al. [2001] in ihren Versuchen zur biologischen Kontrolle von *Streptomyces scabies* (Kartoffelschorf) mit antagonistischen *Streptomyces*-Isolaten fest, dass eine Wirkung von Bakterienisolaten gegen Pflanzenpathogene im Dualkulturtest nicht immer gleichzeitig mit einer antagonistischen Wirkung im Biotest einhergeht. Ebenfalls untersuchten LEBEN et al. [1987] Bakterienisolate von *Pseudomonas fluorescens*, die *in vitro* antagonistische Wirkung zeigten, im Freiland dagegen keinen Effekt auf den Ertrag oder den Befall von Kartoffeln mit *V. dahliae* hatten. ANITH et al. [2003] selektierten ein Bakterienisolat (PN-032R) mit hohem Wirkungsgrad gegen den Erreger *Phytophthora capsici* im Dualkulturtest, das aber *in vivo* an Schwarzem Pfeffer keinerlei Wirkung gegen den Erreger zeigte. Auf der anderen Seite ist eine gute *in vivo*-Wirkung nicht immer mit einem Effekt *in vitro* verbunden [KLOPPER et al. 1992]. JUBINA und GIRIJA [1998] berichten von einem *Bacillus*-Isolat, das *P. capsici* an Schwarzem Pfeffer stark zu hemmen vermochte, während es *in vitro* nur eine schwache Wirkung zeigte. Der Wirkungsmechanismus eines Bakteriums scheint unabhängig von der Artzugehörigkeit zu sein. Da jede Testmethode nur einzelne Wirkungsmechanismen erfasst, ist die Durchführung verschiedener Methoden notwendig, um die Eignung eines Bakterienisolates zur biologischen Bekämpfung von Pathogenen festzustellen.

Für die Bakterienisolate in den vorliegenden Untersuchungen bleibt zu klären, auf welchem Wirkungsmechanismus die Hemmung der phytopathogenen Pilze beruht und ob diese Wirkung auch im Biotest beobachtet werden kann. Durch die Selektion auf Antibiosis sind möglicherweise weitere Isolate mit einer guten antagonistischen Wirkung verworfen worden, so dass das antagonistische Potenzial der Bakterien vermutlich noch höher ist.



### 3 Wirkung selektierter Bakterienisolate auf den Befall mit *Meloidogyne incognita* an Kartoffel

#### 3.1 Einleitung

Sedentäre Nematoden und vasculäre Pilze sind aufgrund ihrer endoparasitären Lebensweise durch chemische Maßnahmen nur schwer zu bekämpfen. Der Wurzelgallennematode *Meloidogyne incognita* verursacht, genauso wie die pflanzenpathogenen Pilze *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani*, weltweit große Schäden im Kartoffelbau und fördert durch die entstandenen Eindringungswunden in der Wurzelstreckungszone den Befall von sekundären Pflanzenpathogenen. Das gleichzeitige Auftreten dieser Pathogene kann zu synergistischen Ertragsausfällen führen [SCHOLTE & JAKOB 1989]. Da der Einsatz chemischer Präparate aufgrund des hohen Risikos für Umwelt und Gesundheit immer stärker beschränkt wird, gewinnen alternative biologische Bekämpfungsstrategien mehr und mehr an Bedeutung [SIKORA 1992].

Die antagonistische Wirkung von Rhizosphärebakterien gegen bodenbürtige Pathogene wurde in vielen Studien beschrieben. Zahlreiche Bakterienstämme der Gattungen *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Serratia* und *Enterobacter* zeigten eine antagonistische Wirkung gegen phytopathogene Pilze [CHEN et al. 1995, LIU et al. 1995, WEI et al. 1996] oder pflanzenparasitäre Nematoden [OOSTENDORP & SIKORA 1989, KLOEPPER et al. 1992b, HASKY-GÜNTHER et al. 1998, HOFFMANN-HERGARTEN et al. 1998, HALLMANN et al. 1997a].

Der prophylaktische Einsatz von Rhizosphärebakterien kann die Pflanze vor der Infektion des Pilzes bzw. der Eindringung des Nematoden schützen [STIRLING 1991, RACKE & SIKORA 1992, BERG et al. 1999, BERG et al. 2001, SIDDIQUI et al. 2001]. Nach erfolgreicher Infektion der Pathogene ist der Schutz der Pflanze jedoch nicht mehr gewährleistet und der Pilz kann sich innerhalb der Pflanze vermehren bzw. der Nematode kann sein Nährzellensystem induzieren. Endophytische Bakterien besiedeln die gleichen ökologischen Nischen wie die Pathogene und können durch verschiedene Abwehrmechanismen das Wachstum bzw. die Ausbreitung der Pathogene im Inneren der Pflanze regulieren [HALLMANN et al. 1995, HALLMANN 1997a]. Das Auffinden von endophytischen Bakterien mit antagonistischer Wirkung, die den Infektionsort besiedeln und so die Pathogene innerhalb der Pflanze effektiv unterdrücken können, wäre daher ein wichtiges Ziel. Einige Studien zeigten bereits eine antagonistische Aktivität endophytischer Bakterien gegenüber Wurzelgallennematoden [HALLMANN et al. 1995, HALLMANN et al. 2001, SIDDIQUI & SHAUKAT 2003]. Über das antagonistische Potenzial kartoffelassoziiierter Bakterien in bezug auf die Nematodenbekämpfung ist bisher jedoch wenig bekannt. Das vorliegende Kapitel beschreibt die Untersuchung des

antagonistischen Potenzials der zuvor an Kartoffeln selektierten Bakterienisolate gegen den Wurzelgallennematoden *M. incognita*. Zusätzlich wurde auch die Wirkung der Isolate auf das Pflanzenwachstum ermittelt. Ziel der Untersuchungen war es, aus den Bakterienisolaten mit antagonistischer Wirkung gegen *V. dahliae* und *R. solani* geeignete Isolate mit reduzierender Wirkung auf *M. incognita* zu selektieren, die somit in naher Zukunft eine gemeinsame biologische Bekämpfung der Pathogene ermöglichen können.

## **3.2 Material und Methoden**

### **3.2.1 Herkunft und Anzucht der Kartoffeln**

Alle Screening-Versuche unter Glas wurden mit Pflanzkartoffeln der nematodenanfälligen Sorte 'HANSA' (Vereinigte Saatzuchten eG, Ebstorf) durchgeführt. Für die Herstellung eines homogenen Ausgangsmaterials wurden Augenstecklinge angezogen. Hierzu wurden die Kartoffeln in Dunkelheit bei ca. 15 °C zum Keimen ausgelegt. Die etwa 1 cm langen Dunkelkeime wurden abgebrochen und zur Bewurzelung in Multitopfplatten mit einem unsterilen Felderde-Sand-Gemisch (1:1) angezogen. Die Keimlinge wurden mit Plastikhauben abgedeckt, um durch eine hohe Luftfeuchtigkeit eine schnellere Bewurzelung zu gewährleisten und das Austrocknen der Erde zu verhindern. Nach ca. einer Woche konnten die 7–10 cm hohen Keimpflanzen für die Versuche eingesetzt werden.

### **3.2.2 Herstellung des Inokulums**

#### *Meloidogyne incognita*

Alle Versuche wurden mit *Meloidogyne incognita* (Kofoed & White) Chitwood, Rasse 3, durchgeführt. Die Vermehrung von *M. incognita* erfolgte an Tomate cv. 'HELLFRUCHT FRÜHSTAMM'. Zur Inokulumgewinnung wurden Wurzeln von 2–3 Monate alten Tomatenpflanzen der Sorte entnommen und mit Leitungswasser gewaschen. Die Eier von *M. incognita* wurden nach der Methode von HUSSEY und BARKER [1973] extrahiert. Hierzu wurden die Wurzeln in etwa 1 cm lange Stücke geschnitten und in einem Waring Blendor für ca. 20 sec. zerkleinert. Das Mazerat wurde in einer 1,0 l Duranflasche in 500 ml einer 1,5 % NaOCl-Lösung für 3 min. kräftig geschüttelt, um die Eiermassen von der gelatinösen Matrix zu trennen. Die NaOCl-Suspension wurde dann in einen Behälter mit 4,5 l Leitungswasser gegeben, um die Chlorkonzentration schnell zu verdünnen. Um die Eier und Larven von der Wurzelmasse abzutrennen, wurde der gesamte Inhalt anschließend über eine Siebkombination von 250 µm, 100 µm, 45 µm und 25 µm gegeben und gut mit Leitungswasser gespült. Danach konnten die Eier und Larven vom 25 µm Sieb in Leitungswasser aufgenommen und auf eine Konzentration von 1000 Larven/ml eingestellt werden. Die Gewinnung der Larven von *M. incognita* erfolgte mit Hilfe von Oostenbrinkschalen. Hierbei

wurden zwei Milchfilter auf einen Siebeinsatz ausgelegt, angefeuchtet und die konzentrierte Nematodeneier-Suspension darauf verteilt. Nach etwa 3–4 Tagen bei ca. 20 °C waren fast alle Larven ausgewandert, konnten über ein 20 µm Sieb in Leitungswasser aufgenommen und auf 1000 Larven/ml eingestellt werden. Je nach zur Verfügung stehendem Inokulum wurden für die Versuche entweder 3000 undifferenzierte Eier, 1500 differenzierte Eier und Larven oder 1000 Larven pro Pflanze verwendet. Die Stammzucht wurde mit 6000 undifferenzierten Eiern oder 3000 differenzierten Eiern und Larven pro Pflanze inokuliert.

#### Herstellung des Bakterieninokulums

Die zu testenden Bakterienisolate wurden auf Nähragar-Platten (1,5 %) ausplattiert und 1–2 Tage bei ca. 20 °C inkubiert. Eine Impföse des Bakterienrasens wurde in jeweils 200 ml Nährbouillon überimpft und die Suspension für 48 h bei 25–28 °C auf einem Schüttler bei 100 UpM kultiviert. Nach 48 h erfolgte die Bestimmung der optischen Dichte (OD=1) der Suspension (Pharmacia, Ultrospec III) bei einer Wellenlänge von 560 nm. Nach Zentrifugation mit 5000 g bei 15 °C für 20 min. wurde das Kulturfiltrat verworfen, das Bakterienpellet in steriler ¼ konzentrierter Ringerlösung resuspendiert und die Suspension mit Hilfe der zuvor ermittelten Werte auf eine optische Dichte (OD<sub>560</sub>) von 2 eingestellt. Dies entsprach je nach Bakterienart einer Anzahl zwischen  $2 \times 10^8$  und  $2 \times 10^{10}$  cfu/ml Suspension.

#### **3.2.3 Versuchsansatz**

Alle Screening-Versuche folgten einer einheitlichen Methodik. Für die Versuche wurden homogene Kartoffelstecklinge verwendet und in ein nicht steriles Erde-Sand-Gemisch (1:1) mit 0,2 % Langzeitdünger (Plantosan, NPK 20-10-5) in Versuchstöpfe (7x7x8 cm) in jeweils fünf Wiederholungen getopft. Die Bakterieninokulation erfolgte in zwei Schritten. Im ersten Schritt wurden jeweils 5 ml mit einer Pipette direkt auf den Pflanzballen gegeben. Die zweite Inokulation von 10 ml einer frisch angesetzten Suspension des jeweils gleichen Bakterienisolates erfolgte nach zwei Tagen direkt an die Wurzel. Hierzu wurden mit einer Pipettenspitze rund um die Wurzel kleine Löcher in die Erde gedrückt und die Suspension anschließend einpipettiert. Die Kontrollpflanzen wurden dementsprechend mit steriler ¼ konzentrierter Ringerlösung behandelt. Nach weiteren drei Tagen erfolgte die Inokulation mit *Meloidogyne incognita* nach dem gleichen Schema wie zuvor bei der Bakterieninokulation rund um die Wurzel. Die Versuchspflanzen wurden täglich bewässert und alle zwei Wochen mit jeweils 10 ml einer 0,2%igen Poly-Crescol-Düngerlösung (NPK 14-10-14) gedüngt. Nach sechs Wochen wurden die Pflanzen geerntet, die Wurzeln unter Leitungswasser von anhaftender Erde befreit und die Spross- und Wurzelfrischmasse bestimmt. Danach wurden die Wurzeln mit einer 0,05%igen Phloxine B-Lösung angefärbt

und die Anzahl Gallen/g Wurzelfrischmasse bzw. die Anzahl Eiermassen/g Wurzelfrischmasse ermittelt.

### 3.2.4 Statistische Auswertung

Die Auswertung der Versuche erfolgte mittels des Computerprogrammes SPSS, Version 11.0. Die Daten wurden auf signifikante Unterschiede nach dem Dunnett-T-Test bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % ( $p \leq 0,05$ ) geprüft, wobei der Mittelwert der Kontrolle mit den Mittelwerten aller anderen Varianten verglichen wurde.

## 3.3 Ergebnisse

### 3.3.1 Wirkung der Bakterienisolate gegen *Meloidogyne incognita*

Für das Screening von Bakterien gegen *M. incognita* an Kartoffeln wurden die Bakterienisolate verwendet, die im Dualkulturtest eine antagonistische Wirkung gegen *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani* zeigten. Im Jahr 2001 wurden alle antagonistischen Isolate aus den vier Habitaten getestet, im Jahr 2002 waren es vornehmlich antagonistische Bakterienisolate aus der Endosphäre und der Endorhiza. Insgesamt wurden 156 Bakterienisolate getestet. In dem Screening-Verfahren zeigten 30 % der getesteten Bakterienisolate einen Wirkungsgrad von  $> 25$  % in Bezug auf die Reduktion der Anzahl Gallen bzw. Eiermassen von *M. incognita*. Bei 13 % der Isolate war die Wirkung signifikant (Tab. 15). Der prozentuale Anteil der gegen *M. incognita* wirksamen Bakterienisolate ( $> 25$  %) betrug in der Rhizosphäre 50 %, in der Phyllosphäre 42 %, in der Endorhiza 25 % und in der Endosphäre 26 %.

**Tab.15:** Anzahl der Bakterienisolate mit antagonistischer Wirkung gegen *Meloidogyne incognita* in Abhängigkeit vom Mikrohabitat

	Anzahl getesteter Isolate	Anzahl der Isolate mit WG <sup>1)</sup> $> 25$ %	Anzahl Isolate mit signifikant erhöhtem WG <sup>2)</sup>
Rhizosphäre	22	11	7
Phyllosphäre	12	5	2
Endorhiza	83	21	9
Endosphäre	39	10	2
<b>Summe</b>	156	47	20

<sup>1)</sup> Wirkungsgrad nach Abbott

<sup>2)</sup> signifikante Wirkung nach dem Dunnett-T-Test ( $p \leq 0,05$ ) in mindestens einem Versuch

Von den 20 Isolaten mit signifikanter Wirkung gegen *M. incognita* reduzierten 16 Isolate ausschließlich die Anzahl der Gallen pro Gramm Wurzelfrischmasse, das Isolat *Pseudomonas chlororaphis* RPE19 reduzierte ausschließlich die Anzahl der Eiermassen und drei Bakterienisolate bewirkten sowohl eine Reduktion der Anzahl Gallen als auch der Anzahl der Eiermassen (Tab. 16). Letztere stammten aus unterschiedlichen Habitaten: *Pseudomonas putida* 3R2-12 aus der Rhizosphäre hatte einen Wirkungsgrad von 87 % (Gallen) bzw. 85 % (Eiermassen), *Pseudomonas putida* 3RE2-7 aus der Endorhiza einen Wirkungsgrad von 97 % (Gallen) bzw. 99 % (Eiermassen) und *Paenibacillus macerans* RPE44A aus der Endosphäre einen Wirkungsgrad von 26 % (Gallen) bzw. 29 % (Eiermassen).

Zweiundzwanzig Isolate, die im ersten Screening erhöhte Wirkungsgrade zeigten, wurden wiederholt in verschiedenen Versuchsreihen getestet (Tab. 16). Sechs Isolate zeigten in allen Versuchen einen positiven Effekt auf die Gallen- und Eiermassenreduktion (RR20, 3R2-12, RP58, RPE19, RPE57, 3PE4-Z-20). Bei den anderen Bakterienisolaten variierten die Ergebnisse zwischen den Versuchen zum Teil beachtlich. Bei sieben Isolaten konnte nur im ersten Versuch ein positiver Effekt auf die Gallen- und Eiermassenreduktion beobachtet werden (RRE95, 2RE1-11, 3RE2-7, 5RE2-27, 3PE1-C-5, 3PE4-C-21, 3PE4-C-24). Bei den restlichen 9 Bakterienisolaten (RR5, RR8, RR76, RRE7, RRE8, RRE80, RRE87, RP67, RPE44A) variierten positive und negative Wirkungsgrade sowohl in der Reduktion der Anzahl Gallen als auch der Anzahl Eiermassen in den unterschiedlichen Versuchen.

**Tab. 16:** Wirkung der Bakterienisolate auf die Reduktion der Anzahl Gallen und Eiermassen von *Meloidogyne incognita* sowie Einfluss der Isolate auf die Wurzel- und Sprossfrischgewichte von Kartoffeln. Werte mit\* unterscheiden sich signifikant von der Kontrollvariante nach dem Dunnett-T-Test ( $p \leq 0,05$ ), sie sind **fett gedruckt** (n=5)

			Wirkungsgrad % <sup>1)</sup>		Wachstum % <sup>2)</sup>	
Isolat	Versuch	Art	Anzahl Gallen	Anzahl Eiermassen	Wurzel FG	Spross FG
Rhizosphäre						
RR5	16	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	58*	61	146	43
	30	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	8	-51	-43	11
RR8	16	<i>Chryseobacterium balustinum</i>	78*	72	104	3
	30	<i>Chryseobacterium balustinum</i>	16	-65	-41	1
	33	<i>Chryseobacterium balustinum</i>	31	-19	18	20
RR12	16	no match	73*	-98	92	23
RR20	31	<i>Streptomyces halstedii</i>	51*	51	48	24
	27	<i>Streptomyces halstedii</i>	4	22	57	1
RR33	30	<i>Paenibacillus macerans</i>	53	26	-34	-25
RR76	16	<i>Streptomyces violaceusniger</i>	76*	-43	183*	30
	30	<i>Streptomyces violaceusniger</i>	49	-12	-64	-23
	38	<i>Streptomyces violaceusniger</i>	27	69	29	15
RR110	31	<i>Streptomyces halstedii</i>	30	12	-19	-8
1R1-22	34	<i>Micrococcus kristinae</i>	70	81	-12	-24
3R2-12	34	<i>Pseudomonas putida</i>	87*	85*	4	-18
	44	<i>Pseudomonas putida</i>	15	15	-16	-15
3R3-1	35	no match	55	56	23	-17
3R4-17	34	<i>Pseudomonas putida</i>	74*	78	1	-7
Endorhiza						
RRE5	M5	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	26*	24	43	42
RRE7	16	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	66*	-38	121	34
	30	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	38	-43	-11	41
	33	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	1	-61	2	12
	36	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	-3	17	159	75
	38	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	-36	48	-4	-12
RRE8	16	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	85*	43	96	50
	32	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	-62	-18	4*	9
	33	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	24	-29	23	14
	36	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	8	1	70	67
	38	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	-54	36	1	-3
	44	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	14	24	-16	-19
RRE80	M5	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	55*	86	21	17
	47	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	11	-14	8	11
RRE87	16	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	70*	77	50	30
	32	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	8	-28	13*	-6
	33	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	27	44	1	-5
	36	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	33	35	80	62
	38	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	-81	19	19	-4
RRE95	M5	<i>Arthrobacter atrocyaneus</i>	53*	64	46	48
	47	<i>Arthrobacter atrocyaneus</i>	-84	-130	-15	-1
2RE1-11	39	<i>Methylobacterium mesophilicum</i>	49*	48	11	16
	44	<i>Methylobacterium mesophilicum</i>	-16	-13	-13	-16
	47	<i>Methylobacterium mesophilicum</i>	-30	-44	-7	0

Tab. 16: Fortsetzung

			Wirkungsgrad % <sup>1)</sup>		Wachstum % <sup>2)</sup>	
Isolat	Versuch	Art	Anzahl Gallen	Anzahl Eiermassen	Wurzel FG	Spross FG
Endorhiza Fortsetzung						
2RE1-22	39	<i>Azospirillum brasilense</i>	35	28	7	17
2RE4-28	39	<i>Pseudomonas putida</i>	38	32	27	17
3RE2-6	34	<i>Pseudomonas putida</i>	57	65	-23	-14
3RE2-7	34	<b><i>Pseudomonas putida</i></b>	<b>97*</b>	<b>99*</b>	-22	-33
	44	<i>Pseudomonas putida</i>	-3	-10	-10	-15
	47	<i>Pseudomonas putida</i>	-34	-102	11	25
3RE2-9	34	<i>Pseudomonas putida</i>	48	42	-5	-26
3RE2-20	35	<i>Pseudomonas savastanoi</i>	41	16	-13	-19
3RE4-21	35	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	48	41	61	5
5RE1-25	45	<i>Pseudomonas putida</i>	31	36	22	13
5RE2-27	45	<b><i>Pseudomonas putida</i></b>	<b>53*</b>	48	22	25
	47	<i>Pseudomonas putida</i>	-54	-136	-5	18
5RE4-23	45	<i>Pseudomonas putida</i>	37	37	28	21
6RE2-4	45	<i>Pseudomonas putida</i>	43	44	2	-1
6RE2-17	45	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>Fraxinus</i>	34	36	14	11
6RE2-20	45	<i>Pseudomonas putida</i>	37	44	36	2
6RE4-21	46	<b><i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>fraxinus</i></b>	40	54	35	<b>152*</b>
Phyllosphäre						
RP58	16	<b><i>Streptomyces violaceusniger</i></b>	<b>85*</b>	91	75	36
	38	<i>Streptomyces violaceusniger</i>	<b>24*</b>	78	37	-3
	31	<i>Streptomyces violaceusniger</i>	29	10	11	3
RP67	16	<b><i>Pseudomonas syringae</i></b>	<b>70*</b>	7	163	68
	30	<i>Pseudomonas syringae</i>	8	-85	-58	5
	33	<i>Pseudomonas syringae</i>	30	-9	14	5
	38	<i>Pseudomonas syringae</i>	-4	60	20	-11
	44	<i>Pseudomonas syringae</i>	<b>25*</b>	42	5	2
RP87	27	<i>Streptomyces halstedii</i>	29	33	39	4
1P1-2	34	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	38	27	-32	-20
4P1-21	43	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	49	49	74	116

Tab. 16: Fortsetzung

			Wirkungsgrad % <sup>1)</sup>		Wachstum % <sup>2)</sup>	
Isolat	Versuch	Art	Anzahl Gallen	Anzahl Eiermassen	Wurzel FG	Spross FG
Endosphäre						
RPE19	37	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	25	27*	0	-28
	38	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	2	52	4	-13
RPE44A	37	<i>Peanibacillus macerans</i>	26*	29*	0	-38
	38	<i>Peanibacillus macerans</i>	-24	49	11	-2
	42	<i>Peanibacillus macerans</i>	-45	-44	7	2
	44	<i>Peanibacillus macerans</i>	-14	-3	-23	-9
RPE57	30	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	59	25	-10	-3
	27	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	10	11	20	7
2PE3-3	39	<i>Bacillus subtilis</i>	31	24	7	27
2PE4-10	39	<i>Bacillus pumilus</i>	30	28	4	11
3PE1-C-5	41	<i>no match</i>	36	36	-12	-13
	44	<i>no match</i>	-10	-7	-15	-12
3PE4-C-21	41	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	43	36	-11	-17
	44	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	-12	-4	-9	-15
3PE4-C-24	41	<i>no match</i>	36	36	-14	-23
	44	<i>no match</i>	-25	-26	-21	-20
3PE4-Z-20	42	<i>Cellulomonas flavigena</i>	55	56	5	7
	47	<i>Cellulomonas flavigena</i>	8	31	4	9
4PE1-3	43	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	37	35	61	100

<sup>1)</sup> Wirkungsgrad nach Abbott

<sup>2)</sup> im Vergleich zur Nematodenkontrolle

\* signifikant verschieden zur Kontrollvariante

Trotz der unterschiedlichen Wirkungskonstanz zeigten im Durchschnitt 11 Bakterienisolate, die wiederholt getestet wurden, eine Reduktion der Gallen- bzw. Eiermassenanzahl von > 25 % (Tab. 17). Die Isolate RR5, RR20, RRE80, RP58, RPE57 und 3PE4-Z-20 wirkten sowohl auf die Anzahl der Gallen als auch auf die Anzahl der Eiermassen reduzierend. Bei RR5 (*Curtobacterium flaccumfaciens*) und RRE80 (*Pseudomonas chlororaphis*) war die Reduktion der Gallen in einem Versuch, bei RP58 (*Streptomyces violaceusniger*) in zwei Versuchen signifikant (Tab. 16). RP58 zeigte zusätzlich im Durchschnitt eine 60%ige Reduktion der Eiermassenanzahl. Eine reduzierende Wirkung überwiegend auf die Anzahl der Gallen bewirkten die Isolate RR8 (*Chryseobacterium balustinum*), RR76 (*Streptomyces violaceusniger*) und RP67 (*Pseudomonas syringae*), wobei bei den ersten beiden Isolaten eine Signifikanz in einem Versuch, bei Letzterem in zwei Versuchen festgestellt werden konnte. Das Isolat RPE19 (*Pseudomonas chlororaphis*) zeigte im Durchschnitt eine 40%ige Reduktion der Eiermassenanzahl, dagegen waren die Gallen zu 14 % reduziert. Sowohl eine 51 %ige Reduzierung der Gallen als auch eine 50 %ige Reduzierung der Eiermassen im Durchschnitt erreichte das Isolat 3R2-12 (*Pseudomonas putida*) aus der Rhizosphäre, dessen Wirkung in beiden Fällen im ersten Versuch statistisch abgesichert werden konnte.



**Tab. 17:** Durchschnittlicher Wirkungsgrad der Reduktion von Gallen- und Eiermassenanzahl und durchschnittlicher Frischmassezuwachs in % durch die Behandlung mit antagonistisch wirksamen Bakterienisolaten (n=5)

			Wirkungsgrad % <sup>1)</sup>		Wachstum % <sup>2)</sup>	
Isolat	Wdh.	Art	Anzahl Gallen	Anzahl Eiermassen	Wurzel FG	Spross FG
Rhizosphäre						
RR5	2	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	33*	5	52	27
RR8	3	<i>Chryseobacterium balustinum</i>	42*	-4	27	8
RR12	1	<i>no match</i>	73*	-98	92	23
RR20	2	<i>Streptomyces halstedii</i>	28*	37	53	13
RR33	1	<i>Paenibacillus macerans</i>	53	26	-34	-25
RR76	3	<i>Streptomyces violaceusniger</i>	51*	5	49*	7
RR110	1	<i>Streptomyces halstedii</i>	30	12	-19	-8
1R1-22	1	<i>Micrococcus kristinae</i>	70	81	-12	-24
3R2-12	2	<i>Pseudomonas putida</i>	51*	50*	-6	-17
3R3-1	1	<i>no match</i>	55	56	23	-17
3R4-17	1	<i>Pseudomonas putida</i>	74*	78	1	-7
Endorhiza						
RRE5	1	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	26*	24	43	42
RRE7	5	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	13*	-15	53	30
RRE8	6	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	3*	10	30	20
RRE80	2	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	33*	36	15	14
RRE87	5	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	11*	29	33*	15
RRE95	2	<i>Arthrobacter atrocyaneus</i>	-16*	-33	16	24
2RE1-11	3	<i>Methylobacterium mesophilicum</i>	1*	-3	-3	0
2RE1-22	1	<i>Azospirillum brasilense</i>	35	28	7	17
2RE4-28	1	<i>Pseudomonas putida</i>	38	32	27	17
3RE2-6	1	<i>Pseudomonas putida</i>	57	65	-23	-14
3RE2-7	3	<i>Pseudomonas putida</i>	20*	-4*	-7	-8
3RE2-9	1	<i>Pseudomonas putida</i>	48	42	-5	-26
3RE2-20	1	<i>Pseudomonas savastanoi</i>	41	16	-13	-19
3RE4-21	1	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	48	41	61	5
5RE1-25	1	<i>Pseudomonas putida</i>	31	36	22	13
5RE2-27	2	<i>Pseudomonas putida</i>	-1	-44	9	22
5RE4-23	1	<i>Pseudomonas putida</i>	37	37	28	21
6RE2-4	1	<i>Pseudomonas putida</i>	43	44	2	-1
6RE2-17	1	<i>Pseudomonas savastanoi</i> <i>pv. fraxinus</i>	34	36	14	11
6RE2-20	1	<i>Pseudomonas putida</i>	37	44	36	2
6RE4-21	1	<i>Pseudomonas savastanoi</i> <i>pv. fraxinus</i>	40	54	35	152*

Fortsetzung Tab. 17

			Wirkungsgrad % <sup>1)</sup>		Wachstum % <sup>2)</sup>	
Isolat	Wdh.	Art	Anzahl Gallen	Anzahl Eiermassen	Wurzel FG	Spross FG
Phyllosphäre						
RP58	3	<i>Streptomyces violaceusniger</i>	46**	60	41	12
RP67	5	<i>Pseudomonas syringae</i>	26**	3	29	14
RP87	1	<i>Streptomyces halstedii</i>	29	33	39	4
1P1-2	1	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	38	27	-32	-20
4P1-21	1	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	49	49	74	116
Endosphäre						
RPE19	2	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	14	40*	2	-21
RPE44A	4	<i>Paenibacillus macerans</i>	-14*	8*	-1	-12
RPE57	2	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	35	18	5	2
2PE3-3	1	<i>Bacillus subtilis</i>	31	24	7	27
2PE4-10	1	<i>Bacillus pumilus</i>	30	28	4	11
3PE1-C-5	2	no match	13	15	-14	-13
3PE4-C-21	2	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	16	16	-10	-16
3PE4-C-24	2	no match	6	5	-18	-22
3PE4-Z-20	2	<i>Cellulomonas flavigena</i>	32	44	5	8
4PE1-3	1	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	37	35	61	100

<sup>1)</sup> Wirkungsgrad nach Abbott<sup>2)</sup> im Vergleich zu Nematodenkontrolle

\* in einem Versuch signifikante Wirkung

\*\* in zwei Versuchen signifikante Wirkung

**fett gedruckt:** signifikante Wirkung in mindestens einem Versuch

49 % der wirksamen Isolate (23 Isolate) hatten in mindestens einem Versuch einen Wirkungsgrad gegenüber *M. incognita* von über 35 % (Tab. 18). Acht Isolate (17 %) bewirkten eine Reduzierung der Gallenanzahl von mehr als 50 % (+++). Von den wiederholt getesteten Bakterienisolaten (Tab. 17) zeigten noch fünf Isolate (11 %) einen Wirkungsgrad von mehr als 35 % (++). Zu diesen Isolaten zählten: *Chryseobacterium balustinum* RR8, *Streptomyces violaceusniger* RR76, *Pseudomonas putida* 3R2-12, *Streptomyces violaceusniger* RP58 und *Pseudomonas chlororaphis* RPE57. Bei den Isolaten RR76 und 3R2-12 betrug der durchschnittliche Wirkungsgrad auf die Reduktion der Gallen von *M. incognita* mehr als 50 %. Zusätzlich zeigten diese Isolate eine stark hemmende Wirkung auf *V. dahliae* und *R. solani* (Tab. 18).

Die meisten der gegen *M. incognita* wirksamen Bakterienisolate (16 von 34 Isolaten) mit einem Wirkungsgrad von mehr als 25 % kamen aus der Gattung *Pseudomonas* (Tab. 19). Fünfzehn Prozent der Isolate zählten zu *Streptomyces*, zwölf Prozent zu *Paenibacillus*. Sechs Prozent der Bakterienisolate fielen auf die Gattung *Bacillus*, weitere sechs Prozent der antagonistischen Isolate gehörten den Gattungen an, die durch die FAME-GC Analyse nicht identifiziert werden konnten.

**Tab. 18:** Antagonistische Aktivität<sup>1)</sup> der Bakterienisolate gegenüber den bodenbürtigen Schaderregern *Verticillium dahliae* (V.d.), *Rhizoctonia solani* (R.s.) und *Meloidogyne incognita* (M.i.)

Probe	V.d.	R.s.	M.i.	Art
<b>Rhizosphäre</b>				
RR5	+	-	+	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>
RR8	+	-	++	<i>Chryseobacterium balustinum</i>
RR12	+	+	+++	no match
RR20	+	+	+	<i>Streptomyces halstedii</i>
RR33	+	+	+++	<i>Paenibacillus macerans</i>
RR76	+++	++	+++	<i>Streptomyces violaceusniger</i>
RR110	+	+++	+	<i>Streptomyces halstedii</i>
1R1 - 22	+++	+++	+++	<i>Micrococcus kristinae</i>
3R2 - 12	+++	+	+++	<i>Pseudomonas putida</i>
3R3 - 1	++	+	+++	no match
3R4 - 17	++	-	+++	<i>Pseudomonas putida</i>
<b>Endorhiza</b>				
RRE5	x	x	+	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
RRE7	-	+	(+)	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
RRE8	-	++	-	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
RRE80	x	x	+	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
RRE87	+	+	(+)	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
RRE95	x	x	-	<i>Arthrobacter atrocyaneus</i>
2Re1-11	x	x	-	<i>Methylobacterium mesophilicum</i>
2RE1-22	x	x	++	<i>Azospirillum brasilense</i>
2Re4-28	++	+	++	<i>Pseudomonas putida</i>
3Re2 - 6	+++	++	+++	<i>Pseudomonas putida</i>
3Re2 - 7	+++	++	(+)	<i>Pseudomonas putida</i>
3Re2 - 9	++	-	++	<i>Pseudomonas putida</i>
3Re2 - 20	++	-	++	<i>Pseudomonas savastanoi</i>
3Re4 - 21	+++	++	++	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
5Re1-25	+++	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>
5Re2-27	+++	+	-	<i>Pseudomonas putida</i>
5Re4-23	+++	+	++	<i>Pseudomonas putida</i>
6Re2-4	+++	-	++	<i>Pseudomonas putida</i>
6Re2-17	+++	-	+	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>fraxinus</i>
6Re2-20	+++	-	++	<i>Pseudomonas putida</i>
6Re4-21	+++	-	++	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>fraxinus</i>

Fortsetzung Tab. 18

Probe	V.d.	R.s.	M.i.	Art
<b>Phyllosphäre</b>				
RP58	-	+	++	<b><i>Streptomyces violaceusniger</i></b>
RP67	-	+	+	<b><i>Pseudomonas syringae</i></b>
RP87	+++	+++	+	<i>Streptomyces halstedii</i>
1P1- 2	+++	+++	++	<i>Paenibacillus polymyxa</i>
4P1-21	+++	+	++	<i>Paenibacillus polymyxa</i>
<b>Endosphäre</b>				
RPE19	x	x	(+)	<b><i>Pseudomonas chlororaphis</i></b>
RPE44A	x	x	-	<b><i>Paenibacillus macerans</i></b>
RPE57	-	+	++	<b><i>Pseudomonas chlororaphis</i></b>
2Pe3-3	++	-	+	<i>Bacillus subtilis</i>
2Pe4-10	++	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>
3PE1-C-5	x	x	(+)	<b>no match</b>
3PE4-C-21	x	x	(+)	<b><i>Pseudomonas chlororaphis</i></b>
3PE4-C-24	x	x	-	<b>no match</b>
3PE4-Z-20	x	x	+	<b><i>Cellulomonas flavigena</i></b>
4PE1-3	+++	++	++	<i>Paenibacillus polymyxa</i>

<sup>1)</sup>antagonistische Aktivität für *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani* ausgedrückt als Radius der Hemmungszone im Dualkulturtest(+ 0–5 mm, ++ 5–10 mm, +++ > 10 mm, - keine Hemmung) sowie für *Meloidogyne incognita* als durchschnittlicher Wirkungsgrad der Reduktion der Gallenanzahl: (+) 10–24 %, + 25–34 %, ++ 35–49%, +++ >50 %, - keine Wirkung

x - keine Daten vorhanden

wiederholt gegen *M. incognita* getestete Isolate sind **fett gedruckt**

**Tab 19:** Verteilung der wirksamen Bakterienisolate auf die Bakteriengattungen

Gattung	Anzahl der Isolate mit WG <sup>1)</sup> >25 %
<i>Arthrobacter</i>	1
<i>Azospirillum</i>	1
<i>Bacillus</i>	2
<i>Cellulomonas</i>	1
<i>Chryseobacterium</i>	1
<i>Curtobacterium</i>	1
<i>Methylobacterium</i>	1
<i>Micrococcus</i>	1
<i>no match</i>	4
<i>Paenibacillus</i>	5
<i>Pseudomonas</i>	24
<i>Streptomyces</i>	5
<b>Summe</b>	<b>47</b>

WG<sup>1)</sup> Wirkungsgrad nach Abbott

### 3.3.2 Einfluss der Bakterienisolate auf die Wurzel- und Sprossfrischmasse

Bei der Auswertung der Versuche wurde weiterhin die Wurzel- und die Sprossfrischmasse der Kartoffeln bestimmt. 19 Isolate (40 %) zeigten in mindestens einem Versuch eine durchschnittliche Steigerung der Wurzel- und Sprossfrischmasse von mehr als 25 %, wobei bei 15 Isolaten (32 %) die Steigerung der Wurzelfrischmasse höher war als die der Sprossfrischmasse. 20 Isolate (43 %) hatten keinen Einfluss auf die Wurzel- bzw. Sprossfrischmasse (Tab. 17).

Von den insgesamt 47 Bakterienisolaten mit einem Wirkungsgrad von über 25 % auf die Reduktion der Gallen- bzw. Eiermassenanzahl von *M. incognita* bewirkten 19 Isolate (40 %) eine durchschnittliche Steigerung der Wurzel- bzw. Sprossfrischmasse von mehr als 25 % im Vergleich zur Nematodenkontrolle (Tab. 17). In Versuchswiederholungen zeigten einige Bakterienisolate teils eine hohe Variabilität bezüglich der Wachstumssteigerungen (Tab. 16), mit Ausnahme der Isolate *Streptomyces halstedii* RR20 und *Pseudomonas chlororaphis* RRE80, die in allen Wiederholungen Wachstumssteigerungen herbeiführten.

Von den wiederholt getesteten Isolaten konnten im Durchschnitt nur die Isolate *Curtobacterium flaccumfaciens* RR5 und *Pseudomonas chlororaphis* RRE7 sowohl die Wurzel- als auch die Sprossfrischmasse um mehr als 25 % steigern. Acht Isolate (RR5, RR8, RR20, RR76, RRE8, RRE87, RP58, RP67) erhöhten die durchschnittliche Wurzelfrischmasse um mehr als 25 % (Tab. 17). Bei den Isolaten *Streptomyces violaceusniger* RR76 und *Pseudomonas chlororaphis* RRE87 war die Wurzelfrischmasse dabei in je einem Versuch mit 183 % bzw. 13 % signifikant erhöht (Tab. 16).

Eine Steigerung der Frischmasse war sowohl bei den Bakterienisolaten, die geringe bis keine Effekte auf die Nematodenreduktion zeigten (RRE7, RRE8, RRE87), als auch bei den Isolaten mit einem Wirkungsgrad von mehr als 25 % (RR5, RR8, RR20, RR76, RP58, RP67) zu beobachten (Tab. 17). Auch die zwei gegen *M. incognita* wirkungsvollsten Isolate *Streptomyces violaceusniger* RR76 und *Pseudomonas putida* 3R2-12 unterschieden sich in ihrem Einfluss auf die Wachstumssteigerung der Pflanze. Während RR76 die Wurzelfrischmasse um durchschnittlich 49 % steigern konnte, hatte das Isolat 3R2-12 keinen Einfluss auf das Wachstum (Tab. 17).

### **3.4 Diskussion**

#### **3.4.1 Wirkung der Bakterienisolate gegen *Meloidogyne incognita***

Die Bakterienisolate, die in den vorherigen Untersuchungen im Dualkulturttest Antibiose gegen *V. dahliae* und *R. solani* zeigten, wurden auf ihr antagonistisches Potenzial zur biologischen Bekämpfung von *M. incognita* getestet. Von den insgesamt 156 getesteten Isolaten zeigten 47 (30 %) eine reduzierende Wirkung auf die Gallen- und Eiermassenanzahl von *M. incognita* von mehr als 25 %. Bei 20 Isolaten (13 %) war die Reduktion in mindestens einem Versuch signifikant.

Antagonistische Effekte von Bakterien gegen *M. incognita* wurden auch von anderen Autoren beschrieben. Sowohl Bakterien aus der Rhizosphäre als auch aus der Endorhiza reduzierten signifikant den Wurzelbefall mit *M. incognita* an Salat und Tomaten [HOFFMANN-HERGARTEN et al. 1998], Baumwolle [HALLMANN et al. 1997c, HALLMANN et al. 1998, HALLMANN et al. 1999], Gurken [HALLMANN et al. 1998], Sojabohnen [KLOEPPER et al. 1992], Mungbohnen [SIDDIQUI et al. 2001] und Kartoffeln [HALLMANN et al. 2001]. Außerdem konnten manche Isolate die Eindringungsrate der L2-Larven signifikant reduzieren [MUNIF 2001], andere bewirkten eine vollkommene Hemmung des Schlupfes von *M. incognita* [JUNG et al. 2002].

Nach WELLER [1985] sollte eine erfolgreiche Isolation potenzieller antagonistischer Kandidaten zur biologischen Kontrolle bodenbürtiger Schaderreger hauptsächlich aus den Habitaten erfolgen können, in denen sie gegen die jeweiligen Pathogene wirken. Entsprechend konzentrierten sich die Untersuchungen zur antagonistischen Wirkung überwiegend auf Bakterienstämme der Rhizosphäre [BECKER et al. 1988, OOSTENDORP & SIKORA 1989, KLOEPPER et al. 1992, RACKE & SIKORA 1992, HOFFMANN-HERGARTEN 1997, HASKY-GÜNTHER et al. 1998, SIDDIQUI et al. 2001, JUNG et al. 2002] und teilweise auch der Endorhiza [HALLMANN et al. 1998, MUNIF 2001, HALLMANN et al. 2003, SIDDIQUI & SHAUKAT 2003]

In den vorliegenden Untersuchungen zeigten 50 % der getesteten Bakterienisolate der Rhizosphäre einen antagonistischen Effekt gegen *M. incognita*. In der Endorhiza betrug der Anteil noch 25 %. Darüber hinaus zeigte sich aber auch ein hohes antagonistisches Potenzial der Bakterienisolate aus den oberirdischen Habitaten. Von den getesteten Isolatentypen der Phyllosphäre hatten 42 %, von denen der Endosphäre 26 % eine reduzierende Wirkung auf *M. incognita*. Dies weist darauf hin, dass auch in Habitaten, die für das Pathogen keinen direkten Infektionsort darstellen, durchaus potenzielle Antagonisten auftreten können und relativiert somit die Aussage von WELLER [1985].

Von den Bakterienisolaten mit einem durchschnittlichen Wirkungsgrad von mehr als 25 % stammten 47 % aus der Gattung *Pseudomonas*. 15 % der Isolate waren *Streptomyces*- und 12 % *Paenibacillus*-Arten. 6 % der Isolate fielen auf die Gattung *Bacillus*. Die Gattungen *Azospirillum*, *Cellulomonas*, *Chryseobacterium*, *Curtobacterium* und *Micrococcus* hatten einen Anteil von jeweils 3 %. Eine durchschnittliche Reduktion des *M. incognita*-Befalls von mehr als 35 % erzielten folgende fünf Bakterienisolate: *Chryseobacterium balustinum* RR8, *Streptomyces violaceusniger* RR76, *Pseudomonas putida* 3R2-12, *Streptomyces violaceusniger* RP58 und *Pseudomonas chlororaphis* RPE 57. Bei *S. violaceusniger* RR76 und *P. putida* 3R2-12 betrug der Wirkungsgrad sogar mehr als 50 %. Letztere zeigten zusätzlich *in vitro* eine starke Hemmung von *V. dahliae* und *R. solani*. Die meisten der hier beschriebenen Bakteriengattungen sind für ihre antagonistische Wirkung bekannt. Vor allem die Gattung *Pseudomonas* umfasst eine große Anzahl antagonistischer Arten. So reduzierte *Pseudomonas* sp. W34 signifikant den Wurzelbefall von *M. incognita* an Tomate und Salat [HOFFMANN-HERGARTEN et al. 1998] und *P. gladioli* und *P. cepacia* bewirkten eine signifikante Reduktion von *M. incognita* an Sojabohnen [KLOEPPER et al. 1992b]. Weiterhin bewirkte *P. fluorescens* eine signifikante Reduktion von *M. incognita* an Baumwolle [HALLMANN et al. 1998, HALLMANN et al. 1999] und Gurken [HALLMANN et al. 1998]. SIDDIQUI et al. [2001] konnten für *P. aeruginosa* eine Reduktion der L2-Larven von *M. incognita* an

Tomate, Soja- und Mungbohne feststellen. MUNIF [2001] beobachtete für *P. putida* MK-19 eine signifikante Reduktion eindringender L2-Larven von *M. incognita* an Tomate. Neben *Pseudomonas* findet man Antagonisten aber auch in anderen Bakteriengattungen. JUNG et al. [2002] erreichten durch den Einsatz von *Paenibacillus illinoisensis* KJA-424 eine vollkommene Hemmung des Schlupfes von *M. incognita*. Die Expression nematizider Substanzen und eine daraus resultierende antagonistische Wirkung gegen pflanzenpathogene Nematoden wurde für einige *Streptomyces*-Arten nachgewiesen [LIU et al. 1995, DOUMBOU et al. 1998]. Die Bakterienarten der übrigen Gattungen waren bislang nicht als Antagonisten gegen *M. incognita* bekannt. Für einige dieser Arten ist jedoch eine antagonistische Wirkung gegen phytopathogene Pilze bzw. Bakterien nachgewiesen. So scheinen aus Kartoffelknollen isolierte Arten der Gattung *Curtobacterium* eine effektive Hemmung des Erregers der Knollennassfäule *Erwinia* spp. hervorzurufen [STURZ & MATHESON 1996]. Ein Bakterienisolat der Art *Azospirillum brasilense* hemmte den Erreger der Blattfleckenkrankheit *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* an Tomatensämlingen [BASHAN & DE-BASHAN 2002]. BERG und BALLIN [1994] konnten für die Art *Pseudomonas chlororaphis* eine hemmende Wirkung auf den bodenbürtigen Pilz *Verticillium dahliae* aufzeigen.

Die Wirkungsmechanismen der vorliegenden antagonistisch wirkenden Bakterienisolate sind bislang noch unklar und bedürfen weiterführender Untersuchungen. Viele verschiedene Mechanismen können für die Unterdrückung von Pflanzenpathogenen verantwortlich sein. Rhizosphärebakterien können durch die Produktion von antibiotischen Substanzen und lytischen Enzymen direkt auf die Schaderregerpopulation einwirken [LEBEN et al. 1987, CHET et al. 1990, BERG & BALLIN 1994]. Die Ausbildung starker Konkurrenz um notwendige Ressourcen wie Nährstoffe, Lebensraum [SCHROTH & HANCOCK 1984, HALLMANN 2001] und die Verminderung der Eisenverfügbarkeit im Boden durch Expression von chelatbildenden Siderophoren [WELLER 1988, BAKKER et al. 1990, HAMDAN et al. 1991, DUIJFF et al. 1994] kann ebenfalls zur Befallsreduktion bodenbürtiger Pathogene führen. Möglicherweise beeinflussen Rhizosphärebakterien die Beziehung zwischen Wirtspflanze und Pathogen durch die Veränderung des Verhaltens der Nematoden während der Eindringungsphase [SIKORA & HOFFMANN-HERGARTEN 1993]. Manche Bakterien verhindern durch Lectin-Bindung an der Wurzeloberfläche die Wirtserkennung durch L2-Larven in der Streckungszone der Wurzel und vermindern somit die Eindringung der Larven in die Wurzel [SPIEGEL & MC CLURE 1991]. Durch die spezifische Anlagerung an die zuckerbindenden Lectine auf der Zellwandoberfläche der Pflanze können einige Bakterienstämme die Ausbildung systemischer Resistenz (ISR) bzw. lokaler Resistenz induzieren [HOFFMANN-HERGARTEN et al. 1997, HASKY-GÜNTHER et al. 1998, REITZ 1999, COVENTRY & DUBERY 2001, SIDDIQUI & SHAUKAT 2002a u. 2002b]. REITZ et al. [2000] konnten nachweisen, dass für die



Resistenzinduktion hitzestabile Exopolysaccharide (EPS) und Lipopolysaccharide (LPS) verantwortlich sind. EPS sind auch bekannt als wichtige Virulenzfaktoren von pflanzenpathogenen Bakterien [MANSFIELD & BROWN 1986], während LPS auch einen wichtigen Schlüsselfaktor in der Symbiose von Rhizobien und Leguminosen darstellen [LEIGH & COPLIN 1992, DENNY 1995].

Neben Rhizosphärebakterien können aber auch endophytische Bakterien zur Verbesserung der pflanzlichen Abwehr von Pilzen, Bakterien und Nematoden beitragen [in HALLMANN 2001]. Da endophytische Bakterien die gleichen endogenen Nischen besiedeln wie Pathogene, scheinen sie als potenzielle Antagonisten vor allem gegen vasculäre Welke-Pathogene wie *Fusarium oxysporum* und *Verticillium* spp. sowie endoparasitäre Nematoden hervorragend geeignet zu sein [CHEN et al. 1995, PLEBAN et al. 1995, HALLMANN et al. 1997a u. 2003]. HALLMANN [2001] unterscheidet dabei zwei mögliche Strategien. In der ersten Strategie, der präventiven Besiedlung und Besetzung der ökologischen Nische des Pathogens, kommt es zu Hemmungs- und Verdrängungseffekten. Diese Strategie wird bereits erfolgreich bei der Bekämpfung des Pathogens *Agrobacterium tumefaciens* mit dem nicht-pathogenen Stamm *Agrobacterium radiobacter* K84 angewandt. Für Nematoden vermuten HALLMANN et al. [2001] als einen möglichen Abwehrmechanismus die Konkurrenz um Nährstoffe in den Nährzellensystemen. Die durch *M. incognita* induzierten Riesenzellen stellen einen metabolischen Sink dar und enthalten im Vergleich zu normalen Wurzelzellen das fünf- bis sechsfache an Glukose und freien Aminosäuren [MCCLURE 1977, HUANG 1985]. Möglicherweise nutzen die Bakterien diese Nährstoffquelle und verringern durch verstärkte Nährstoffaufnahme das Nahrungsangebot für die sich entwickelnden Larven, was zu einer Störung im Entwicklungs- bzw. Reproduktionsprozess der Nematoden führen kann [HALLMANN 1997b]. In der zweiten Strategie wird vermutet, dass endophytische Bakterien die Pathogene direkt durch Bildung antibiotischer Substanzen unterdrücken können [MAURHOFER et al. 1992, HINTON & BACON 1995] oder die pflanzeigenen Abwehrmechanismen stimulieren [STURZ et al. 2000, HALLMANN 2001]. Die Produktion von nematiziden Substanzen einiger Bakterienstämme ist höchst effektiv, jedoch aufgrund möglicher Nebenwirkungen auf den Menschen in der Pflanze nicht erwünscht und somit für die biologische Kontrolle nicht geeignet [ATKINSON et al. 1998]. Der Mechanismus der systemisch induzierten Resistenz (ISR) scheint daher für die spätere praktische Anwendung Erfolg versprechender zu sein. ISR gegen bakterielle und pilzliche Pathogene konnte auch schon für einige endophytische Bakterien nachgewiesen werden [STURZ et al. 2000, zusammengefasst in HALLMANN 2001]. Neuere Untersuchungen beschreiben eine resistenzinduzierende Wirkung von *Rhizobium etli* G12 und *Bacillus sphaericus* B43 gegen den Kartoffelzystennematoden *Globodera pallida* [HASKY-GÜNTHER et al. 1998, REITZ 1999,

REITZ et al. 2002]. ISR wurde weiterhin für die Bakterienstämme *Pantoea agglomerans* MK-29, *Cedeceae davisae* MK-30, *Enterobacter* sp. MK-42 und *Pseudomonas putida* MT-19 gegen *M. incognita* [MUNIF et al. 2001] und für *Pseudomonas aeruginosa* IE-6S+ gegen *M. javanica* nachgewiesen [SIDDIQUI & SHAUKAT 2002a]. Die Induktion systemischer Resistenz benötigt eine spezielle Erkennung von Endophyt und Pflanze. HALLMANN [2001] vermutet für Endophyten eine sehr viel bessere Resistenzinduktionsleistung als Rhizosphärebakterien, da sie über einen längeren Zeitraum in engerem Kontakt mit der Pflanze stehen. Intensiv untersucht wurden die Wirkungsmechanismen in der Vergangenheit für Rhizosphärebakterien, jedoch wird angenommen, dass ein Großteil dieser Mechanismen auch auf Endophyten übertragbar ist [STURZ et al. 2000].

Ein großes Problem beim Einsatz biologischer Präparate gegen bodenbürtige Schaderreger ist die geringe Persistenz und Wirkungsstabilität [MEYER & ROBERTS 2002]. Diese Instabilität wird durch eine Vielzahl von biotischen und abiotischen Faktoren verursacht. Biotische Einflüsse umfassen dabei Interaktionen mit Mikroorganismen und Nicht-Ziel-Pathogenen, die Kolonisationsfähigkeit und -stärke der Rhizosphäre, die Populationsdichte des Schaderregers, die Anfälligkeit der Wirtspflanze gegenüber dem Pathogen und die Pflanzenart bzw. -sorte [STIRLING 1991, SIKORA & HOFFMANN-HERGARTEN 1993, PIERSON & WELLER 1996, DUFFY et al. 1996, KERRY & BOURNE 1996, KERRY 1998, HEBBAR et al. 1998, KOKALIS-BURELLE et al. 2002]. Abiotische Einflüsse wie die klimabedingte, physikalische und chemische Zusammensetzung der Rhizosphäre haben ebenfalls einen Einfluss auf die Bakterien und damit auf deren antagonistische Wirkung gegen bodenbürtige Schaderreger [STIRLING 1991, SIKORA & HOFFMANN-HERGARTEN 1993, OWNLEY et al. 1992]. In den vorliegenden Untersuchungen war die geringe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ein Problem. Insbesondere bei der Reduktion der Gallen- und Eiermassenzahlen von *M. incognita* wurde eine hohe Variabilität der Ergebnisse in den verschiedenen Versuchen festgestellt. Dies wurde auch durch andere Untersuchungen bestätigt [HALLMANN et al. 1997a, HALLMANN et al. 2001, SIDDIQUI & EHTESHAMUL-HAGUE 2001]. Die Kontrolle endogener Pathogene ist in den meisten Fällen nicht beständig und beträgt selten mehr als 50 %. Jedoch konnte bereits für die Isolate *P. fluorescens* 89B-61 [HALLMANN et al. 1998], *Brevundimonas vesicularis* IN884 und *Serratia marcescens* [HALLMANN et al. 1997c] an Baumwolle und *Rhizobium etli* G12 an Kartoffel eine anhaltende und reproduzierbare Wirkung gegen *M. incognita* nachgewiesen werden [HALLMANN et al. 2001]. SIDDIQUI und EHTESHAMUL-HAGUE [2001] untersuchten die antagonistische Wirkung von *Pseudomonas aeruginosa* auf *M. javanica* und stellten fest, dass der Bekämpfungserfolg sowohl von der Inokulumsdichte des Bakteriums als auch von der Befallsstärke des Nematoden abhängig zu sein scheint. Sie ermittelten eine effektive Wirkung bei einer Grenzpopulationsdichte der antagonistischen

Bakterien von  $2,5 \times 10^8$  cfu/ml. Während durch eine Erhöhung der Bakteriendichte keine zusätzliche antagonistische Wirkung mehr erzielt werden konnte, war der Bekämpfungserfolg unterhalb dieser Grenze signifikant reduziert. Möglicherweise hat jedes Bakterienisolat eine spezifische Grenzpopulationsdichte, ab der erst eine ausreichende antagonistische Wirkung zu erwarten ist. Die benötigte Populationsdichte ist dabei scheinbar auch vom Wirkungsmechanismus des jeweiligen Bakterienstammes abhängig [HALLMANN 2001]. Beruht er auf der Expression antibiotischer Substanzen, so wirken steigende Populationsdichten positiv auf die antagonistische Wirkung gegenüber dem jeweiligen Pathogen. Für die induzierte systemische Resistenz ist die Höhe der Populationsdichte dagegen weniger entscheidend, solange sie einen bestimmten Schwellenwert erreicht, der nötig ist, um die pflanzeigenen Abwehrmechanismen zu stimulieren [HALLMANN 2001].

### 3.4.2 Einfluss der Bakterienisolate auf die Wurzel- und Sprossfrischmasse

In den vorliegenden Untersuchungen konnten 19 der 47 getesteten Isolate die Spross- bzw. Wurzelfrischmasse um mehr als 25 % steigern. Die fünf Bakterienisolate, die in wiederholten Versuchen durchschnittlich die beste antagonistische Wirkung gegen *M. incognita* zeigten, hatten jedoch einen unterschiedlichen Einfluss auf das Pflanzenwachstum. Während *Chryseobacterium balustinum* RR8, *Streptomyces violaceusniger* RR76 und *Streptomyces violaceusniger* RP58 die Wurzelfrischmasse erhöhten, zeigten *Pseudomonas putida* 3R2-12 und *Pseudomonas chlororaphis* RPE57 keine Wachstumseffekte. Grundsätzlich wurde kein Zusammenhang zwischen Förderung des Pflanzenwachstums und antagonistischer Aktivität gegen *M. incognita* festgestellt. Die Interpretation der Ergebnisse muss jedoch den Versuchsaufbau berücksichtigen. Beim *Meloidogyne*-Screening stand primär die antagonistische und weniger die wachstumsfördernde Wirkung im Vordergrund. Dennoch können die jeweiligen Ergebnisse Auskunft über eventuelle Wirkungstendenzen der Bakterienisolate in bezug auf die Eigenschaften zur Wachstumsförderung geben. Auch hinsichtlich des Pflanzenwachstums trat eine hohe Variabilität zwischen den Versuchen auf. Diese hohe Variabilität stellt für die kommerzielle Anwendung als pflanzenwachstumsfördernde Bakterien (plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR) generell ein Problem dar [KLOEPPER et al 1989, CHANWAY & HOLL 1992, DE FREITAS & GERMIDA 1992]. Sie wird durch viele Faktoren, wie Klima, Bodeneigenschaften, Zusammensetzung der Mikroflora, Nährstoff- und Wasserverfügbarkeit oder auch Konkurrenz mit dem Pathogen beeinflusst [MCARTHUR et al. 1988, HASSINK et al. 1991, LATOUR et al. 1996]. Für die Wirksamkeit von PGPR ist eine schnelle und nachhaltige Kolonisierung der Wurzeloberfläche essentiell [KLOEPPER & BEAUCHAMP 1992]. Fehlt diese Eigenschaft, kann die Etablierung applizierter Bakterien durch die starke Konkurrenz der

pflanzenspezifischen Bakterien beeinträchtigt, und somit die Wirkung durch eine zu geringe Populationsdichte an der Wurzel verhindert werden [NEHL et al. 1997].

Die Fähigkeit von PGPR zur Förderung des Pflanzenwachstums zeigte sich bereits in zahlreichen Untersuchungen [KLOEPPER et al. 1986 u. 1989, CHANWAY & HOLL 1992, CHABOT et al. 1996, 1998]. Diese Eigenschaft wurde auch für einige endophytische Bakterien an zahlreichen Kulturpflanzen nachgewiesen [HALLMANN et al. 1997a]. SURETTE et al. [2003] isolierten Endophyten aus der Karotte und konnten für 83 % eine Pflanzenwachstumsförderung nachweisen. STURZ [1995] fand unter den isolierten Endophyten aus Kartoffelknollen 10 % mit wachstumsfördernder Wirkung. Zur erfolgreichen Anwendung von PGPR ist die Kenntnis des zugrunde liegenden Wirkungsmechanismus der Pflanzenförderung von großer Bedeutung, d.h. die Kenntnis über den Mechanismus der Wurzelkolonisierung und den vorteilhaften Nutzen für die Pflanze. Über den Wirkungsmechanismus der Wachstumsförderung der untersuchten Bakterienisolate ist bislang wenig bekannt. Grundsätzlich können Bakterien entweder direkt oder indirekt auf das Pflanzenwachstum einwirken. PGPR können direkt durch Bildung von Phytohormonen wie Ethylen, Cytokinin und Auxin [JACOBSON et al. 1994, ARSHAD & FRANKENBERGER 1991] oder indirekt durch die Verbesserung der Nährstoffverfügbarkeit für die Pflanze, z. B. Phosphatlöslichkeit oder N<sub>2</sub>-Fixierung [TINKER 1984, KUCEY et al. 1989, KOZYROVSKA et al. 1996, BASHAN & HOLGUIN 1997, HECHT-BUCHHOLZ 1998] das Pflanzenwachstum stimulieren. Indirekt fördern manche Bakterien das Pflanzenwachstum auch durch Induktion der Phytohormonsynthese in der Pflanze selbst [LAZAROVITS & NOWAK 1997]. Pflanzengesundheitsfördernde Bakterien (PHPR) können indirekt durch die Unterdrückung von Schaderregerpopulationen zu einer Steigerung des Pflanzenwachstums führen [SIKORA 1988]. Scheinbar besteht in vielen Fällen ein Zusammenhang zwischen der Eigenschaft zur Wachstumsförderung und der antagonistischen Wirkung. RAUPACH und KLOEPPER [1998] beobachteten für die Kombination der drei Bakterienstämme *Bacillus pumilus* INR7, *Bacillus subtilis* GB03 und *Curtobacterium flaccumfaciens* ME1 sowohl eine signifikante antagonistische Wirkung auf verschiedene Gurkenpathogene als auch eine signifikante Erhöhung des Gurkenwachstums. HOFFMANN-HERGARTEN et al. [1998] konnten für die einzelnen Bakterienstämme *Pseudomonas* sp. W34, *Bacillus cereus* S18 und *Bacillus subtilis* VM1-32 eine signifikante Reduktion der Gallenanzahl von *M. incognita* an Tomate zeigen, fanden aber nur für *Pseudomonas* sp. W34 eine gleichzeitig signifikante Erhöhung der Spross- und Wurzelgewichte. Auch in den vorliegenden Untersuchungen konnte nicht für alle antagonistischen Bakterienstämme eine Wachstumsförderung beobachtet werden. Besonders bei den Bakterienisolaten aus der Endosphäre zeigten sich nur geringe bzw. teils auch negative Effekte auf das Wurzel- und Sprosswachstum.

Entweder bildeten sie keine wachstumsfördernden Substanzen, oder es traten möglicherweise intra- und interspezifische Konkurrenzeffekte, die sich unterschiedlich auf den Metabolismus der einzelnen Bakterienarten auswirkten und später unterschiedliche Wachstumseffekte bei der Pflanze hervorriefen [STURZ & CHRISTIE 1995]. Einige Studien zeigten, dass manche Isolate trotz negativer Einzelwirkung in Kombination durchaus begünstigend auf das Pflanzenwachstum wirken konnten. STURZ et al. [1997] beobachteten für die Bakterienstämme *Curtobacterium citreum* und *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* an Rotklee starke Wachstumsdepressionen bei der Einzelapplikation, jedoch eine Wachstumsförderung bei kombinierter Applikation. In der gleichen Studie zeigten *Bacillus megaterium* und *Curtobacterium luteum* sowohl allein als auch in Kombination mit *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* ein verbessertes Pflanzenwachstum.

Die Ausführungen machen deutlich, dass jedes Bakterienisolat seine charakteristischen Eigenschaften besitzt, die zunächst einzeln untersucht werden müssen [STURZ et al. 1998]. Die Förderung des Pflanzenwachstums und der Pathogenabwehr durch Bakterien lässt sich nicht von der Bakterienart ableiten. Bakterienisolate, die bei Einzelanwendung negativ auf das Pflanzenwachstum wirken, können bei kombinierter Applikation durchaus einen positiven Nutzen für die Pflanze haben.

### 3.4.3 Möglichkeiten zur Verbesserung der antagonistischen Wirkung von Bakterien

Das Problem bei der Herstellung biologischer Präparate ist häufig das sehr enge Wirkungsspektrum im Vergleich zu chemischen Präparaten und die geringe Stabilität und Persistenz biologischer Präparate im Boden, was die kommerzielle Nutzung in der landwirtschaftlichen Praxis stark einschränkt [WILSON & BACKMAN 1999]. Eine Möglichkeit, dem entgegenzuwirken, ist die Kombination unterschiedlicher Mikroorganismen mit verschiedenen antagonistischen Wirkungsmechanismen.

Die Kombination antagonistischer und gleichzeitig wachstumsfördernder Bakterienstämme kann durch eine schnelle und widerstandsfähige Kolonisierung des Keimlings die Pathogenabwehr stärken und durch eine verstärkte Wachstumsrate die Zeit der gegen Pathogene empfindlichen Vegetationsphase verkürzen [KLOEPPER et al. 1999]. Auch wäre eine Kombination von Rhizosphärebakterien und endophytischen Bakterien denkbar, die eine nachhaltige biologische Kontrolle von *M. incognita* gewährleisten könnte. Ist der Schutz der Wurzel durch Rhizosphärebakterien nach erfolgreicher Infektion der Pathogene nicht mehr ausreichend, können die Endophyten durch verschiedene Abwehrmechanismen die Ausbreitung bzw. das Wachstum der Pathogene im Inneren der Pflanze unterdrücken [HALLMANN et al. 1995, HALLMANN 1997a]. Eine Kombination von Antagonisten

verschiedener Habitate wie Rhizosphäre und Endorhiza bzw. Phyllosphäre und Endosphäre könnte ein übergreifendes System zur biologischen Kontrolle schaffen, das gegen eine Vielzahl von Wurzel- und Blattpathogenen aktiv ist [HALLMANN et al. 1997a].

Gegen *M. incognita* zeigte bereits die Kombination von Pilzen und Bakterien antagonistische Wirkung. Das Bakterium *Bacillus subtilis* bewirkte zusammen mit dem Pilz *Paecilomyces lilacinus* eine Reduktion der Anzahl der Gallen, der Eiermassen und der L2-Larven von *M. incognita* an Tomate und eine Steigerung des Pflanzenwachstums sowohl bei Einzel- als auch bei kombinierter Applikation, wobei die Kombinationswirkung besser war als die Einzelwirkung [GAUTAM et al. 1995]. Auch die Kombination von Bakterien mit organischen Substanzen zeigte bereits nachhaltige antagonistische Wirkung gegen *M. incognita*. KOKALIS-BURELLE et al. [2002] konnten mit einem PGPR-Mix mit *Bacillus subtilis* und Chitin eine signifikante Reduktion von *Meloidogyne*-Gallen an Paprika nachweisen.

Die Kombination verschiedener Mikroorganismen mit additiven oder synergistischen Eigenschaften kann das Wirkungsspektrum erweitern und die Stabilität der Antagonisten im Boden erhöhen [PIERSON & WELLER 1994, BACKMANN et al. 1997, GUETSKY et al. 2002, MEYER & ROBERTS 2002, JETIYANON et al. 2003]. So konnten RAUPACH und KLOEPPER [1998] durch die Kombination der Bakterienstämme *Bacillus subtilis* (GB03), *Bacillus pumilus* (INR7) und *Curtobacterium flaccumfaciens* (ME1) als Saatgutbehandlung eine signifikante Reduktion der drei bakteriellen Gurkenpathogene *Colletrichum orbiculare*, *Erwinia tracheiphila* und *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* erreichen. Gegen pflanzenparasitäre Nematoden und andere bodenbürtige Schaderreger an Tomate, Paprika und Erdbeeren wurde bereits ein kommerzielles Präparat (Bio Yield™ Gustaffson LLC) aus einer Mischung von *Paenibacillus macerans* und *Bacillus amyloliquefaciens* entwickelt [KOKALIS-BURELLE et al. 2000, MARTINEZ-OCHOA et al. 2000].

Für einige Bakterien mit wachstumsfördernder Wirkung wurde sowohl in Gewächshaus- als auch in Feldstudien die Eigenschaft zur Induktion systemischer Resistenz (ISR) gegen pathogene Pilze [LIU et al. 1995b, CHEN et al. 1995, YAN et al. 2002, RAJ et al. 2003], Bakterien [LIU et al. 1995a, PARK & KLOEPPER 2000], Viren [RAUPACH et al. 1996] und Nematoden [HOFFMANN-HERGARTEN et al. 1998] an verschiedenen Kulturpflanzen nachgewiesen. Die Wahrscheinlichkeit der antagonistischen Wirkung gegen ein breiteres Spektrum von Pflanzenpathogenen ist bei der Kombination von Bakterien, die ISR ausbilden können, höher als bei der Kombination von Antagonisten, die antibiotische Substanzen produzieren [KLOEPPER et al. 1996].

Die Kombination von biologischen Präparaten mit hoher Einzelwirkung scheitert jedoch oft an negativen Effekten, wie der gegenseitigen Hemmung durch Konkurrenz oder Expression antibiotischer Substanzen [RAUPACH & KLOPPER 1998], und kann die biologische Kontrolle von Schaderregern verringern. So zeigte die Kombination zweier bereits kommerziell genutzter Präparate, des Pilzes *Trichoderma virens* (Soilguard-ThermoTrilogy, Corp., Columbia MD) und des Bakteriums *Burkholderia cepacia* (Denvy-Stine Microbial Products, Madison WI), die bei Einzelapplikation die Population von *M. incognita* signifikant unterdrücken können, keine signifikante Reduktion von *M. incognita* im Vergleich zur Kontrolle [MEYER et al. 2000 u. 2001]. CHEN et al. [2000] beobachteten die Inkompatibilität zwischen den gegen *M. hapla* antagonistischen Mikroorganismen *Bacillus thuringiensis*, *Paecilomyces marquandii* und *Streptomyces costaricanus*. Bei Einzelapplikation reduzierten alle drei Antagonisten signifikant die Anzahl der Gallen und Eiermassen in unbehandeltem Boden, in Kombination war dagegen keine Wirkung festzustellen. Die effektive Wirkung von kombinierten Präparaten scheint also vom Wirkungsmechanismus und der Kompatibilität der Mikroorganismen untereinander abhängig zu sein und kann daher nicht von ihrer Einzelleistung abgeleitet werden [MEYER & ROBERTS 2002].

Zur Erhöhung der Stabilität, Wirkung und Marktfähigkeit biologischer Präparate im Boden gehört weiterhin die Optimierung der Formulierung und des Applikationszeitpunktes. Die Art der Formulierung bestimmt die Überlebensdauer des Bakteriums während der Lagerung und nach der Applikation am Wirkungsort und somit die Effektivität der biologischen Schädlingskontrolle [zusammengefasst in SIDDIQUI & MAHMOOD 1999]. Nicht formulierte Bakteriensuspensionen sind in der Regel weniger als zehn Tage haltbar und verlieren in diesem Zeitraum gänzlich ihre Wirkung [VIDHYASEKARAN et al. 1997]. Bisher wurden verschiedenste Formulierungen auf der Basis von Talkum, Vermiculit und Torf für verschiedene Bakterien getestet [VIDHYASEKARAN et al. 1997, GASONI et al. 1998, SABARATNAM & TRAQUAIR 2002]. Auch die Verkapselung von *Pseudomonas*-Stämmen mit verschiedenen Polymerverbindungen wie Methacryl-Copolymer, Ethylcellulose oder modifizierte Stärke [AMIET-CHARPENTIER et al. 1998] oder der Einschluss in Gelatine- und Polythenekapseln [RAJAPPAN et al. 2002] konnten die Stabilität und Dauer der Wirksamkeit der Präparate erhöhen. Zahlreiche Applikationsmethoden sind bereits bekannt und reichen von verschiedenen Saatgut- und Bodenbehandlungen bis hin zur Stängelinjektion und Sprühapplikation von Bakteriensuspensionen auf Blätter [HALLMANN et al. 1997a]. Die Applikationsmethode kann bei einigen Bakterien die Wirkung entscheidend beeinflussen. CICCILLO et al. [2002] konnten z. B. für das Bakterium *Burkholderia ambifaria* MCI 7 eine signifikante Wachstumssteigerung bei Saatgutapplikation an Mais feststellen, jedoch eine starke Wachstumsdepression bei Applikation in den Boden. Eine Kombination verschiedener

Applikationstechniken kann einen Schutz für die Pflanze je nach Bedarf und Vegetationsstadium über die gesamte Vegetationsperiode gewähren [HALLMANN et al. 1997a]. So können Saatgut- und Bodenbehandlung den Sämling schon sehr früh in Keim- und Jugendstadium schützen, während Sprühinokulation die Antagonisten direkt auf die Blätter befördert und sich gut für den kombinierten Einsatz mit Fungiziden oder Insektiziden eignet [RAJ et al. 2003].

Das Screening der kartoffelassoziierten Bakterien steht am Anfang der Entwicklung potenzieller biologischer Präparate zur Bekämpfung von *M. incognita* und bodenbürtigen Schaderregern und machte deutlich, dass nicht nur die Bakterien der unterirdischen Habitate, sondern scheinbar auch die der Phyllosphäre und der Endosphäre durchaus eine Quelle potenzieller Antagonisten zur wirksamen biologischen Bekämpfung von Kartoffel-pathogenen sind. Da die Bakterienisolate sich nicht kategorisieren lassen und jedes Isolat seine charakteristischen Eigenschaften besitzt [STURZ et al. 1998], bedarf es noch intensiver Untersuchungen der vorliegenden wirksamen Bakterienstämme bezüglich der Wirkungsmechanismen, des Wirkungsspektrums, der Fähigkeit zur hinreichenden Etablierung in dem jeweiligen Habitat, der Kompatibilität mit anderen Biocontrol Agents und der Prüfung verschiedener Formulierungs- und Applikationstechniken, um genauere Aussagen über die Möglichkeiten einer biologischen Bekämpfung bodenbürtiger Pflanzenpathogene zu machen bzw. den praktischen Einsatz potenzieller Kandidaten zu optimieren. Eine Kombination mehrerer Bakterienstämme mit unterschiedlichen Wirkungsmechanismen und Umwelt-optima, die somit gegen ein breites Pathogenspektrum wirken und die Persistenz gegenüber biotischen und abiotischen Faktoren erhöhen können, könnte in naher Zukunft für die Anwendungspraxis eine erfolgversprechende Alternative zu chemischen Präparaten sein [RAUPACH & KLOEPPER 1998, SCHOTTEL et al. 2001].



## 4 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, das Spektrum kultivierbarer Bakterien der Rhizosphäre, Phyllosphäre, Endorhiza und Endosphäre von Kartoffeln zu charakterisieren und die Bakterien hinsichtlich ihres antagonistischen Potenzials gegenüber den bodenbürtigen Schaderregern *Verticillium dahliae* und *Rhizoctonia solani* zu testen. Antagonistisch wirksame Isolate wurden weiterhin auf ihre antagonistische Wirkung gegen den Wurzelgallennematoden *Meloidogyne incognita* an Kartoffeln getestet.

### Lebendkeimzahl

Die Dichte der Bakterienpopulationen war abhängig vom Mikrohabitat und folgte in beiden Versuchsjahren einem gemeinsamen Trend. Die bakterielle Lebendkeimzahl war in der Rhizosphäre mit  $10^7$ – $10^8$  cfu/g Frischmasse am höchsten, in der Endosphäre mit  $10^1$ – $10^4$  cfu/g Frischmasse am niedrigsten. Bis auf die Rhizosphäre war in allen Habitaten ein Anstieg der Populationsdichten über die Vegetationsperiode zu beobachten.

### Bakterienspektrum

Insgesamt wurden 2716 Bakterienisolate mit Hilfe der FAME-Gaschromatographie identifiziert und das Bakterienspektrum der verschiedenen Habitate charakterisiert. Es zeigten sich Unterschiede im Spektrum und in der Diversität der Bakterienpopulationen in den einzelnen Habitaten sowie über die Vegetationsperiode. Während sowohl die Rhizosphäre als auch die Endosphäre ein ähnliches Spektrum der dominanten Bakteriengattungen mit *Bacillus*, *Pseudomonas* und *Stenotrophomonas* aufwiesen, waren die dominanten Gattungsspektren von Phyllosphäre und Endosphäre verschieden. In der Phyllosphäre dominierten *Arthrobacter*, *Bacillus* und *Pseudomonas*, in der Endosphäre *Bacillus*, *Curtobacterium*, *Pseudomonas* und *Micrococcus*. Die Gattungen *Bacillus* und *Pseudomonas* zeigten generell die höchste Dominanz. Ihre Abundanzen variierten jedoch, wie die restlichen Gattungen, teilweise stark in Abhängigkeit von Habitat und Vegetationsstadium. Der Anteil der Bakteriengattungen der Endorhiza an der Rhizosphäre und der Endosphäre an der Phyllosphäre betrug jeweils 53–54 %. Das Bakterienspektrum der Endorhiza bzw. der Endosphäre zeigte dabei jeweils eine gewisse Übereinstimmung mit den Spektren der Rhizosphäre bzw. Phyllosphäre.

Die Diversitäten folgten über die Versuchsjahre in den einzelnen Habitaten mit Ausnahme der Phyllosphäre einem gemeinsamen Trend. Die Diversitätszahlen N1 und N2 zeigten in der Rhizosphäre jeweils die höchsten, in der Endorhiza die niedrigsten Werte. Bei den oberirdischen Habitaten war die Diversität der Endosphäre höher als die der Phyllosphäre. Die starken Schwankungen in der Phyllosphäre deuten auf eine stärkere Abhängigkeit von

abiotischen Einflüssen wie UV-Strahlung, Nährstoff- und Wasserverfügbarkeit, Temperaturschwankungen, Salzstress etc. hin.

### **Antagonistische Wirkung gegen pilzliche Schaderreger**

Der Anteil der Antagonisten am Gesamtbakterienspektrum gegen *V. dahliae* und *R. solani* variierte im Laufe der Vegetationsperiode. Der größte Teil der antagonistischen Bakterienisolate trat mit einem Anteil von 14–15 % zum Zeitpunkt der Blüte auf, mit Ausnahme des Jahres 2002, in dem ein sehr hoher Anteil an Antagonisten von 31 % im Jugendstadium zu verzeichnen war. Die antagonistischen Bakterienisolate waren bis zu 88 % den dominanten Gattungen *Bacillus* und *Pseudomonas* zugehörig. Die Bakterienisolate mit antagonistischer Wirkung gegen *R. solani* waren schon ab dem Jugendstadium über die gesamte Vegetationsperiode aktiv, während die antagonistischen Isolate gegen *V. dahliae* überwiegend ab der Blüte eine Wirkung zeigten. Bakterienisolate mit einer Wirkung speziell gegen *R. solani* waren in 2002 bis hin zur Blüte zum großen Teil in der Phyllosphäre lokalisiert. Isolate mit einer Wirkung gegen beide Schaderreger traten hauptsächlich in der Rhizosphäre und Endorhiza auf.

### **Antagonistische Wirkung gegen *Meloidogyne incognita***

Insgesamt wurden 156 selektierte Bakterienisolate mit antagonistischer Wirkung gegen *V. dahliae* und *R. solani* an Kartoffelpflanzen auf ihr antagonistisches Potenzial zur biologischen Kontrolle von *M. incognita* getestet. Davon zeigten 47 Isolate (30 %) eine reduzierende Wirkung auf die Anzahl der Gallen und Eiermassen von über 25 %. Antagonistische Bakterienisolate gegen *M. incognita* waren nicht nur in den unterirdischen, sondern auch in den oberirdischen Habitaten zu finden. Der Anteil der getesteten Isolate mit reduzierender Wirkung betrug in der Rhizosphäre 50 %, in der Phyllosphäre 42 %, in der Endosphäre 26 % und in der Endorhiza 25 %.

Fast die Hälfte (47 %) der Bakterienisolate mit einem durchschnittlichen Wirkungsgrad von über 25 % war der Gattung *Pseudomonas* zugehörig. Aus der Gattung *Streptomyces* stammten 15 %, aus der Gattung *Paenibacillus* 12 % und aus der Gattung *Bacillus* 6 % der wirksamen Isolate. Mit jeweils 3 % waren die Gattungen *Azospirillum*, *Cellulomonas*, *Chryseobacterium*, *Curtobacterium* und *Micrococcus* am antagonistischen Potenzial beteiligt. Die wirkungsvollsten Isolate waren *Chryseobacterium balustinum* RR8, *Streptomyces violaceusniger* RR76, *Pseudomonas putida* 3R2-12 aus der Rhizosphäre, *Streptomyces violaceusniger* RP58 aus der Phyllosphäre und *Pseudomonas chlororaphis* RPE57 aus der Endosphäre. Sehr vielversprechend in Bezug auf die multifunktionale Wirkung waren die Rhizosphärebakterien RR76 und 3R2-12. Sie zeigten einen durchschnittlichen Wirkungsgrad

von über 50 % auf die Reduktion der Gallen von *M. incognita* und gleichzeitig eine stark hemmende Wirkung auf das Wachstum von *V. dahliae* und *R. solani*. Ob diese Multifunktionalität jedoch auch an der Kartoffelpflanze besteht, muss in weiteren Studien geprüft werden.

19 der 47 Bakterienisolate mit antagonistischer Wirkung gegen *M. incognita* konnten die Spross- bzw. Wurzelfrischmasse um mehr als 25 % steigern, wobei bei 15 Isolaten die Steigerung der Wurzelfrischmasse höher war als die der Sprossfrischmasse. Die Ergebnisse zeigten keinen Zusammenhang zwischen der antagonistischen Wirkung und der Steigerung des Pflanzenwachstums. Von den besten gegen *M. incognita* wirksamen Isolaten zeigten lediglich die drei Isolate *Chryseobacterium balustinum* RR8, *Streptomyces violaceusniger* RR76 und *Streptomyces violaceusniger* RP58 eine zusätzliche Steigerung der Wurzelfrischmasse von mehr als 25 %.

## 5 Literatur

AHL P., VOISARD C. and DEFAGO G., 1986: Iron bound siderophores, cyanic acid and antibiotics involved in suppression of *Thielaviopsis basicola* by *Pseudomonas fluorescens* strain. J. Phytopathol., 116: 121-134

AKHTAR M. and MALIK A., 2000: Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. Biores. Technol., 74: 35-47

AMIET-CHARPENTIER C., GADILLE P., DIGAT B. and BENOIT J.P., 1998: Microencapsulation of rhizobacteria by spray-drying: formulation and survival studies. J. Microencaps., 15 (5): 639-659

ANITH K.N., RADHAKRISHNAN N.V. and MANOMOHANDAS T.P., 2003: Screening of antagonistic bacteria for biological control of nursery wilt of black pepper (*Piper nigrum*). Microbiol. Res., 158: 1-7

ANON, 1997: Report of the Ninth Meeting of the Parties to the Montreal Protocol on the Substances that deplete the Ozone Layer. United Nations Environment Programme, Montreal, Canada, pp. 1-47

ARIAS R.S., SAGARDOY M.A. and VAN VUURDE J.W., 1999: Spatio-temporal distribution of naturally occurring *Bacillus* spp. and other bacteria on the phylloplane of soybean under field conditions. J. Basic Microbiol., 39 (5-6): 283-292

ARSHAD M. and FRANKENBERGER W.T., 1991: Microbial production of plant hormones. In: KLEISTER D.L. and CREGAN P.B. (Eds.), The Rhizosphere and Plant Growth. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands

ARYA R. and SAXENA S.K., 1999: Influence of certain rhizosphere fungi together with *Rhizoctonia solani* and *Meloidogyne incognita* on germination of 'PUSA RUBY' tomato seeds. Indian Phytopathol. 52:121-126

ATKINSON H.J., LILLEY C.J., URWIN P.E. and MCPHERSON M.J., 1998: Engineering resistance to plant-parasitic nematodes. In: The physiology and biochemistry of free-living and plant parasitic nematodes. Wallingford, UK, CABI Publishing

BACK M.A., HAYDOCK P.P.J. and JENKINSON P., 2002: Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soilborne pathogens. Plant Pathol., 51: 683-697

BACKMANN P.A., WILSON M. and MURPHY J.F., 1997: Bacteria for biological control of plant diseases. In: RECHCIGL N.A. and RECHCIGL J.E. (Eds.), Environmentally safe Approaches to Crop Disease Control CRC Lewis Publishers, Boca Raton, FL

BACON C.W. and HINTON D.M., 1997: Isolation and culture of endophytic bacteria and fungi. In: HURST, C.J., KNUDSEN, G.R., MCINERY, M.J., STENZENBACH, L.D. and WALTER M.V. (Eds.) Manual of environmental microbiology, ASM Press, Washington, D.C.

BAHME J.B. and SCHROTH M.N., 1987: Spatial-temporal colonization patterns of a rhizobacterium on underground organs of potato. Phytopathol., 77: 1093-1100

BAKKEN L.R., 1997: Culturable and non-culturable bacteria in soil. In: VAN ELSAS J.D., WELLINGTON E.M.H. and TREVORS J.T. (Eds.), Modern Soil Microbiology, Marcel Dekker, New York

- BAKKER P.A.H.M., VAN PEER R. and SCHIPPERS B., 1990: Specificity of siderophores and siderophore receptors and biocontrol by *Pseudomonas* spp. In: HORNBY D. (Ed.), Biological Control of Soilborne Plant Pathogens, CABI, Wallingford, Oxon, UK
- BARKA E.A., GOGNIES S., NOWAK J., AUDRAN J.-C. and BELARBI A., 2002: Inhibitory effect of endophyte bacteria on *Botrytis cinerea* and its influence to promote the grapevine growth. Biol. Control, 24: 135-142
- BASHAN Y. and HOLGUIN G., 1997: *Azospirillum*-plant relationships: Environmental and physiological advances (1990-1996). Can. J. Microbiol. 43: 103-121
- BASHAN Y. and DE-BASHAN L.E., 2002: Protection of tomato seedlings against infection by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* by using the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. Appl. Environ. Microbiol., 68 (6): 2637-2643
- BEATTIE G.A. and LINDOW S.E., 1994: Epiphytic fitness of phytopathogenic bacteria: physiological adaptations for growth and survival. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 192: 1-27
- BEAUCHAMP C.J., KLOEPPER J.W. and ANTOUN H., 1993: Detection of genetically engineered bioluminescent pseudomonads in potato rhizosphere at different temperatures. Microb. Releas., 1: 203-207
- BECKER J.O., ZAVALA-MEJIA E., COLBERT S.F., SCHROTH M.N., WEINHOLD A.R., HANCOCK J.G. and VAN GUNDY S.D., 1988: Effects of rhizobacteria on root-knot nematodes and gall formation. Phytopathol., 78: 1466-1469
- BENHAMOU N, KLOEPPER J.W., QUADT-HALLMANN A. and TUZUN S., 1996: Induction of defence-related ultrastructural modifications in pea root tissues inoculated with endophytic bacteria. Plant Physiol., 112: 919-929
- BENZIRI E., BAUDOUIN E. and GUCKERT A., 2001: Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. Bio. Sci. Technol., 11: 557-574
- BERG G. and BALLIN G., 1994: Bacterial antagonists to *Verticillium dahliae* Kleb. J. Phytopathol., 141: 99-110
- BERG G., KNAAPE C., BALLIN G. and SEIDEL D., 1994: Biological control of *Verticillium dahliae* KLEB. by naturally occurring rhizosphere bacteria. Arch. Phytopathol. Dis. Protect., 29: 249-262
- BERG G., 1996: Rhizobacteria of oilseed rape antagonistic to *Verticillium dahliae* var. *longisporum* STARK. J. Plant Diseases. Prot., 103 (1): 20-30
- BERG G., KURZE S. and DAHL R., 1999: Rhizobakterienisolate zur Anwendung gegen phytopathogene Bodenpilze und Verfahren zur Anwendung der Rhizobakterienisolate. Europäisches Patent Nr. 98124694.5
- BERG G., BUCHNER A., WELLINGTON E.H.M. and SMALLA K., 2000a: Successful strategy for the selection of new strawberry-associated rhizobacteria antagonistic to *Verticillium* wilt. Can. J. Microbiol., 4: 1128-1137
- BERG G., FRITZE A., ROSKOT N. and SMALLA K., 2001: Evaluation of potential biocontrol rhizobacteria from different host plants of *Verticillium dahliae* Kleb. J. Appl. Microbiol., 91 (6): 963-971

- BERG G., MARTEN P., MINKWITZ A. and BRÜCKNER S., 2001a: Efficient biological control of fungal plant diseases by *Streptomyces* sp. DSMZ 12424. J. Plant Diseases Prot., 108 (1): 1-10
- BERG G., ROSKOT N., STEIDLE A., EBERL L., ZOCK A. and SMALLA K., 2002: Plant-dependent genotypic and phenotypic diversity of antagonistic rhizobacteria isolated from different *Verticillium* host plants. Appl. Environ. Microbiol., 68 (7): 3328-3338
- BLOEMBERG G.V. and LUGTENBERG B.J.J., 2001: Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. Curr. Opin. Plant Biol., 4: 343-350
- BOLLAG J.-M. and STROTZKY G., 1990: Pseudomonads as antagonists of soilborne plant pathogens. Soil Biochem., 6: 249-291
- BOWEN G.D. and ROVIRA A.D., 1999: The rhizosphere and its management to improve plant growth. Adv. Agronomy., 66: 1-102
- BOWERS G.D. and PARKE J.L., 1993: Colonization of pea (*Pisum sativum*) taproots by *Pseudomonas fluorescens*: effect of soil temperature and bacterial mobility. Soil Biol. Biochem., 25: 1693-1701
- BURKE D.W., HOLMES L.D. and BARKER A.W., 1972: Distribution of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* and bean roots in relation to tillage and soil compaction. Phytopathol., 59: 14-328
- CHABOT R., ANTOUN H. and CESCAS M.P., 1993: Stimulation de la croissance du maïs et de la laitue romaine par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique. Can. J. Microbiol., 39: 941-947
- CHABOT R., ANTOUN H., KLOPPER J.W. and BEAUCHAMP C.J., 1996: Root colonization of maize and lettuce by bioluminescent *Rhizobium leguminosarum* biovar. *phaseoli*. Appl. Environ. Microbiol., 2: 2767-2772
- CHABOT R., BEAUCHAMP C.J., KLOPPER J.W. and ANTOUN H., 1998: Effect of phosphorous on root colonization and growth promotion of maize by solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. Soil Biol. Biochem., 30: 1615-1618
- CHANWAY C.P. and HOLL F.B., 1992: Influence of soil biota on Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb. franco) seedling growth: the role of rhizosphere bacteria. Can. J. Bot., 70: 1025-1031
- CHEN C., BAUSKE M., MUSSON G., RODRIGUEZ-KÁBANA, R. and KLOPPER J.W., 1995: Biological control of *Fusarium* wilt on cotton by use of endophytic bacteria. Biol. Contr., 5: 83-91
- CHEN J., ABAWI G.S. and ZUCKERMAN B.M., 2000: Efficacy of *Bacillus thuringiensis*, *Paecilomyces marquandii* and *Streptomyces costaricanus* with and without organic amendments against *Meloidogyne hapla* infecting lettuce. J. Nematol., 32: 70-77
- CHET I., ORDENTLICH A., SHAPIRA R. and OPPENHEIM A., 1990: Mechanisms of biocontrol of soil-borne plant pathogens by rhizobacteria. Plant and Soil, 129: 85-92
- CICCILLO F., FIORE A., BEVIVINO A., DALMASTRI C., TABACCHIONI S. and CHIARINI L., 2002: Effects of two different application methods of *Burkholderia ambifaria* MCI 7 on plant growth and rhizospheric bacterial diversity. Environ. Microbiol., 4 (4): 238-245
- CLAY K., 1988: Fungal endophytes of grasses: a defensive mutualism between plants and fungi. Ecology, 69: 10-16

- COVENTRY H.S. and DUBERY I.A., 2001: Lipopolysaccharides from *Burkholderia cepacia* contribute to an enhanced defensive capacity and the induction of pathogenesis-related proteins in *Nicotianae tabacum*. *Phys. Mol. Plant Pathol.*, 58 (4): 149-158
- DE FREITAS J.R. and GERMIDA J.J., 1992: Growth promotion of winter wheat by fluorescent pseudomonads under field conditions. *Soil. Biol. Biochem.*, 24: 1137-1146
- DENNY T.P., 1995: Involvement of bacterial polysaccharides in plant pathogenesis. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 33: 173-195
- DERRIDJ S., 1996: Aerial Plant Surface Microbiology. MORRIS C.E., NICOT P.C. and NGUYEN-THE C. (Eds.), Plenum, New York, pp.25-42
- DICKINSON C.H., 1986: Adaption of microorganisms to climatic conditions affecting aerial plant surfaces. In: FOKKEMA N.J. and VAN DEN HEUVEL J. (Eds.) *Microbiology of the phyllosphere*, Cambridge University Press, Cambridge
- DOUMBOU C.L., AKIMOV V. and BEAULIEU C., 1998: Selection and characterization of microorganisms utilizing thaxtomin A, a phytotoxin produced by *Streptomyces scabies*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 44: 4313-4316
- DUFFY B.K., SIMON A. and WELLER D.M., 1996: Combination of *Trichoderma koningii* with fluorescent pseudomonads for control of take-all of wheat. *Phytopathol.*, 86: 188-194
- DUIJFF B.J., BAKKER P.A.H.M. and SCHIPPERS B., 1994: Influence of Pseudobactin 358 on the iron nutrition of barley. *Soil Biol. Biochem.*, 26: 1681-1688
- EL ARAB H.G.D., VILICH V. and SIKORA R.A., 2001: The use of phospholipid fatty acids (PL-FA) in the determination of rhizosphere specific microbial communities (RSMC) of two wheat cultivars. *Plant and Soil*, 228 (2): 291-297
- ELLIS R.J., THOMPSON I.P. and BAILEY M.J., 1999: Temporal fluctuations in the pseudomonad population associated with sugar beet leaves. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 28: 345-356
- ELVIRA-RECUENCO M. and VAN VUURDE J.W.L., 2000: Natural incidence of endophytic bacteria in pea cultivars under field conditions. *Can. J. Microbiol.*, 46: 1036-1041
- ERCOLANI G.L., 1991: Distribution of epiphytic bacteria on olive leaves and the influence of leave age and sampling time. *Microb. Ecol.*, 21: 25-48
- FINSTEIN M.S. and ALEXANDER M., 1962: Competition for carbon and nitrogen between *Fusarium* and bacteria. *Soil Sci.*, 94: 334-339
- FOLMAN, L.B., POSTMA, J.A. and VAN VEEN, J.A., 2001: Ecophysiological characterization of rhizosphere bacterial communities at different root locations and plant developmental stages of cucumber grown on rockwool. *Microb. Ecol.*, 41: 586-597
- FRAVEL D.R., 1988: Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 26: 75-91
- FRAVEL D.R., 1992: Systems of efficient delivery of microbial biocontrol agents to soil. In: *Biological control of plant diseases. Progress and challenges for the future*, NATO ASI Series, Series A, Plenum Press, New York, Vol. 230: pp. 399-406
- GAGNÉ S., RICHARD C., ROUSSEAU H. and ANTOUN H., 1987: Xylem-residing bacteria in alfalfa roots. *Can. J. Microbiol.*, 33: 996-1000

- GARVEBA P.; VAN OVERBEEK L.S.; VAN VUURDE J.W.L. and VAN ELSAS J.D., 2001: Analysis of endophytic bacterial communities of potato by plating and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) of 16S rDNA based PCR fragments. *Microb. Ecol.*, 41: 369-383
- GASONI L., COZZI J. and KOBAYASHI K., 1998: Survival of potential biocontrol bacteria in various formulations and their ability to reduce radish damping-off caused by *Rhizoctonia solani*. *J. Plant Dis. Prot.*, 105 (1): 41-48
- GAUTAM A., SIDDIQUI Z.A. and MAHMOOD I., 1995: Integrated management of *Meloidogyne incognita* on tomato. *Nematol. Med.*, 23: 245-247
- GERMIDA, J.J, SICILIANO, S.D., FREITAS, J.R. and SEIB, A.M., 1998: Diversity of root-associated bacteria associated with field-grown canola (*Brassica napus* L) and wheat (*Triticum aestivum* L). *FEMS Microbiol. Ecol.*, 26: 43-50
- GRAYSTON S.J., WANG S., CAMPBELL C.D. and EDWARDS A.C., 1998: Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biol. Biochem.*, 30: 369-378
- GUETSKY R., SHTIENBERG D., ELAD Y., FISCHER E. and DINOOR A., 2002: Improving biological control by combining biocontrol agents each with several mechanisms of disease suppression. *Phytopathol.*, 92 (9): 976-985
- GUTBERLET V., 2000: Untersuchungen zur Eignung der Verkapselung des nematophagen Pilzes *Hirsutella rhossiliensis* für die biologische Bekämpfung von *Heterodera schachtii* und *Meloidogyne incognita* unter Verwendung nachwachsender Rohstoffe. Dissertation, Universität Bonn, Germany
- HALLMANN J., KLOEPPER J.W., RODRIGUEZ-KÁBANA R. and SIKORA R.A., 1995: Endophytic rhizobacteria as antagonists of *Meloidogyne incognita* on cucumber. Abstract, *Phytopathol.*, 85: 1136
- HALLMANN J. and SIKORA R.A., 1996: Toxicity of fungal endophytes secondary metabolites to plant parasitic nematodes and soil-borne plant pathogenic fungi. *Europ. J. Plant Pathol.*, 102: 155-162
- HALLMANN J.; QUADT-HALLMANN A.; MAHAFFEE W.F. and KLOEPPER J.W., 1997a: Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.*, 43: 895-914
- HALLMANN J.; KLOEPPER J.W. and RODRIGUEZ-KÁBANA R., 1997b: Application of the Scholander pressure bomb to studies on endophytic bacteria of plants. *Can. J. Microbiol.*, 43: 411-416
- HALLMANN J., RODRIGUEZ-KÁBANA R. and KLOEPPER J.W., 1997c: Nematode interactions with endophytic bacteria. *Proceedings of the 4th International Workshop on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*, pp. 243-245
- HALLMANN J., 1998: Untersuchungen zur Chitin-induzierten Suppressivität von *Meloidogyne incognita* an Baumwolle. *Mitt. der Deutschen Phytomed. Gesellschaft*, 28: 50
- HALLMANN J., QUADT-HALLMANN A., RODRIGUEZ-KÁBANA R. and KLOEPPER J.W., 1998: Interactions between *Meloidogyne incognita* and endophytic bacteria in cotton and cucumber *Soil Biol. Biochem.*, 30 (7): 925-937
- HALLMANN J., RODRIGUEZ-KABÁNA R. and KLOEPPER J.W., 1999: Chitin-mediated changes in bacterial communities of the soil, rhizosphere and within roots of cotton in relation to nematode control. *Soil Biol. Biochem.*, 31: 551-560



- HALLMANN J., 2001: Biotic interactions in plant pathogen associations. In: JEGER M.J., SPENCE N.J. (Eds.) Plant interactions with endophytic bacteria, CAB International
- HALLMANN J., QUADT-HALLMANN A., MILLER W.G., SIKORA R.A. and LINDOW S.E., 2001: Endophytic colonization of plants by the biocontrol agent *Rhizobium etli* G12 in relation to *Meloidogyne incognita* infection. Phytopathol., 91 (4): 415-422
- HALLMANN J., FAUPEL A., KRECHEL A., SIKORA R.A. and BERG G., 2003: Endophytic bacteria and biological control of nematodes. IOBC-Bulletin, in press
- HAMMERSCHMIDT R. and KUĆ J., 1995: Induced resistance to disease in plants. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer
- HAMDAN H., WELLER D.M. and THOMASHOW L.S., 1991: Relative importance of fluorescent siderophores and other factors in biological control of *Geaumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* 2-79 and M4-80R. Appl. Environ. Microbiol., 57: 3270-3277
- HASKY-GÜNTHER K., HOFFMANN-HERGARTEN S. and SIKORA R.S., 1998: Resistance against the potato cyst nematode *Globodera pallida* systemically induced by the rhizobacteria *Agrobacterium radiobacter* (G12) and *Bacillus sphaericus* (B43). Fundam. Appl. Nematol., 21 (5): 511-517
- HASSINK J., VOSHAAR J.H.O., NIJHUIS E.H. and VAN VEEN J.A., 1991: Dynamics of the microbial populations of a reclaimed-polder soil under a conventional and a reduced-input farming system. Soil Biol. Biochem., 23: 515-524
- HEBBAR K.P., MARTEL M.H. and HEULIN T., 1998: Suppression of pre- and postemergence damping-off in corn by *Burkholderia cepacia*. Europ. J. Plant Pathol., 104: 29-36
- HECHT-BUCHHOLZ C., 1998: The apoplast-habitat of endophytic dinitrogen-fixing bacteria and their significance for the nitrogen nutrition of nonleguminous plants. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde, 161: 509-520
- HEMMING B.C., 1990: Bacteria as antagonists in biological control of plant pathogens. In: BAKER R.R. and DUNN P.E. (Eds.) New directions in biological control: Alternatives for suppressing agricultural pests and diseases. Alan R. Liss, New York
- HEUER H. and SMALLA K., 1997: Application of denaturing Gradient Gel Electrophoresis and Temperature Gradient Gel Electrophoresis for studying soil microbial communities. In: VAN ELSAS J.D., WELLINGTON E.M.H. and TREVORS J.T. (Eds.), Modern Soil Microbiology, Marcel Dekker, New York
- HILL M.O., 1973: Diversity and evenness: a unifying notation and its consequences. Ecology, 54: 427-432
- HINTON D.M. and BACON C.W., 1995: *Enterobacter cloacae* is an endophytic symbiont of corn. Mycopathologica, 129: 117-125
- HIRANO S.S. and UPPER C.D., 1989: Diel variation in population size and ice nucleation activity of *Pseudomonas syringae* on snap bean leaflets. Appl. Environ. Microbiol., 55: 623-630
- HIRANO S.S. and UPPER C.D., 2000: Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae*- a pathogen, ice nucleus and epiphyte. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 64: 624-653

- HÖFLICH G., WIEHE W. and HECHT-BUCHHOLZ, C., 1995: Rhizosphere colonization of different crops with growth promoting *Pseudomonas* and *Rhizobium* bacteria. Microbiol. Res., 150: 139-147
- HOFFMANN-HERGARTEN S., GULATI M.K. and SIKORA R.A., 1998: Yield response and biological control of *Meloidogyne incognita* on lettuce and tomato with rhizobacteria. J. Plant Dis. and Prot. 105 (4): 349-358
- HOLLIS, J.P., 1951: Bacteria in healthy potato tissue. Phytopathol., 41: 350-366
- HUANG C.S., 1985: Formation, anatomy and physiology of giant cells induced by root-knot nematodes. In: SASSER J.N. and CARTER C.C. (Eds.), Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Vol.1, Biology and Control, North Carolina State University Graphics, Raleigh
- HUSSEY R.S. and BARKER K.R., 1973: A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Dis. Rep., 57 (12): 1025-1028
- JACOBS J.L. and SUNDIN G W., 2001: Effect of solar UV-B radiation on a phyllosphere bacterial community. Appl. Env. Microbiol., 67 (12) : 5488-5496
- JACOBSON C.B., PASTERNAK J.J. and GLICK B.R., 1994: Partial purification and characterization of 1-amino-cyclopropane-1-carboxylate deaminase from the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. Can. J. Microbiol., 40: 1019-1025
- JAEGER C.H., II., LINDOW S.E., MILLER W., CLARK E. and FIRESTONE M.K., 1999: Mapping of sugar and amino acid availability in soil around roots with bacterial sensors of sucrose and tryptophan. Appl. Environ. Microbiol., 65: 2685-2690
- JAMES E.K. and OLIVARES F.L., 1998: Infection and colonization of sugar cane and other graminaceous plants by endophytic diazotrophs. Crit. Rev.Plant Sci., 17: 88
- JATALA P., 1986: Biological control of plant parasitic nematodes. Annu. Rev. Phytopathol., 24: 453-489
- JETIYANON K., FOWLER W.D. and KLOEPPER J.W., 2003: Broad-spectrum protection against several pathogens by PGPR mixtures under field conditions in Thailand. Plant Dis., 87 (11): 1390-1394
- JOUBERT J. and DALMASSO A., 1972: Possible interaction between *Rhizoctonia solani* and *Meloidogyne incognita* on potato. Ann. Phytopathol., 4: 409
- JUBINA P.A. and GIRIJA V.K., 1998: Antagonistic rhizobacteria for management of *Phytophthora capsici*, the incitant of foot rot of black pepper. J. Mycol. Plant Pathol., 28: 147-153
- JUNG W.J., JUNG S.J., AN K.N., JIN Y.L., PARK R.D., KIM K Y., SHON B.K. and KIM T H., 2002: Effect of chitinase-producing *Paenibacillus illinoisensis* KJA-424 on egg hatching of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). J. Microbiol. Biotechnol., 12 (6): 865-871
- JURKEVITCH E.J. and SHAPIRA G.: 2000: Structure and colonization dynamics of epiphytic bacterial communities and of selected component strains on tomato (*Lycopersicon esculentum*) leaves. Microb. Ecol., 40: 300-308
- KERRY B.R., 1990: An assessment of progress toward microbial control of plant parasitic nematodes. Ann. Appl. Nematol., 621-631

- KERRY B.R. and BOURNE J.M., 1996: The importance of rhizosphere interactions in the biological control of plant-parasitic nematodes- a case study using *Verticillium chlamydosporium*. *Pest. Sci.* 47: 69-75
- KERRY B.R., 1998: Progress towards biological control strategies for plant parasitic nematodes. The 1998 Brighton Crop Protection Conference: Pests and Diseases, 3: 739-746
- KIEWNICK S. JACOBSEN B.J., BRAUN-KIEWNICK A., ECKHOFF J.L.A. and BERGMANN J.W., 2001: Integrated control of *Rhizoctonia* crown and root rot of sugar beet with fungicides and antagonistic bacteria. *Plant Dis.*, 85 (4): 718-722
- KINKEL L.L., WILSON M. and LINDOW S.E., 1995: Effect of sampling scale on the assessment of epiphytic bacterial-populations. *Microb. Ecol.*, 29: 283-297
- KINKEL L.L., 1997: Microbial population dynamics on leaves. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 35: 327-347
- KINKEL L.L., WILSON M. and LINDOW S.E., 2000: Quantitative relationships among thaxtomin A production, potato scab severity, and fatty acid composition in *Streptomyces*. *Microb. Ecol.*, 39: 1-11
- KLOEPPER J.W., SCHER F.M., LALIBERTE F.M. and TIPPING B., 1986: Emergence-promotion rhizobacteria: description and implications for agriculture. In: SWINBURNE T.R. (Edt.), *Iron, Siderophores and Plant Diseases*, Plenum Press, New York
- KLOEPPER J.W., LIFSHITZ R. and ZABLOTOWITZ R., 1989: Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnol.*, 7: 39-44
- KLOEPPER J.W.; RODRIGUEZ-KÁBANA R.; MCINROY J.A. and COLLINS D.J., 1991: Analysis of populations and physiological characterization of microorganisms in rhizospheres of plants with antagonistic properties to phytopathogenic nematodes. *Plant and Soil*, 136: 95-102
- KLOEPPER J.W., ZABLOTOWITZ R.M., TIPPING E.M. and LIFSHITZ R., 1991b: Plant-growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In: KLEISTER D.L. and CREGAN P.B. (Eds.), *The rhizosphere and plant growth*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands
- KLOEPPER J.W. and BEAUCHAMP C.J., 1992: A review of issues related to measuring colonization of plant-roots by bacteria. *J. Microbiol.* 38: 1219-1232
- KLOEPPER J.W., MCINROY J.A. and BOWEN K.L., 1992: Comparative identification by fatty acid analysis of soil, rhizosphere and geocarposphere bacteria of peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant and Soil*, 139: 85-90
- KLOEPPER J.W., RODRIGUEZ-KÁBANA R., MCINROY J.A. and YOUNG R.W., 1992b: Rhizosphere bacteria antagonistic to soybean cyst (*Heterodera glycines*) and root-knot (*Meloidogyne incognita*) nematodes: Identification by fatty acid analysis and frequency of biological control activity. *Plant and Soil*, 139: 75-84
- KLOEPPER J.W., ZEHNDER G.W., TUZUN S., MURPHY J.F., WIE G., YAO C. and RAUPACH G.S. 1996: Toward agricultural implementation of PGPR-mediated induced systemic resistance against crop pests. In: WENHUA T., COOK R.J. and ROVIRA A. (Eds.) *Advances in Biological Control of Plant Diseases*. China Agricultural University Press, Beijing

- KLOEPPER J.W., TUZUN S., ZEHNDER G.W. AND WEI G., 1997: Multiple disease protection by rhizobacteria that induce systemic resistance- Historical precedence. *Phytopathol.* 87 (2): 136-137
- KLOEPPER J.W., RODRIGUEZ-KABANA R., ZEHNDER G.W., MURPHY J.F., SIKORA E. and FERNANDEZ C., 1999: Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. *Australas. Plant Pathol.* 28: 21-26
- KOKALIS-BURELLE N., FUENTES-BÓRQUEZ P. and ADAMS P., 2000: Effects of reduced risk alternatives on nematode populations and crop yield. *Proc. Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions*, 61.1-61.2
- KOKALIS-BURELLE N., VAVRINA C.N., ROSSKOPF E.N. and SHELBY R.A., 2002: Field evaluation of plant-growth promoting rhizobacteria amended transplant mixes and soil solarization for tomato and pepper production in Florida. *Plant and Soil*, 238: 257-266
- KOZYROVSKA N., KOVTUNOVYCH G., GROMOSOVA E. KUHARCHUK P. and KORDYUM V., 1996: Novel inoculants for an environmentally friendly crop production. *Res. Conserv. Recycl.*, 18 (1-4): 79-85
- KRECHEL A., FAUPEL A., HALLMANN J., ULRICH A. and BERG G., 2002: Potato-associated bacteria and their antagonistic potential towards plant-pathogenic fungi and the plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. *Can. J. Microbiol.*, 48: 772-786
- KUCEY R.M.N., JANZEN H.H. and LEGGETT M.E., 1989: Microbially mediated increases in plant-available phosphorus. *Adv. Agronomy* 42: 199-228
- KURZE S., BAHL H., DAHL R. and BERG G., 2001: Biological control of fungal strawberry diseases by *Serratia plymuthica* HRO-C48. *Plant Dis.*, 85: 529-534
- LAMB R.J. and BROWN J.F., 1970: Non-parasitic microflora on leaf-surfaces of *Paspalum dilatatum*, *Salix babylonica* and *Eukalyptus stellulata*. *Trans. Brit. Mycol.Soc.*, 55: 383-390
- LAMB T.G., TONKYN D.W. and KLÜPFEL D.A., 1996: Movement of *Pseudomonas aureofaciens* from the rhizosphere to aerial plant tissue. *Can. J. Microbiol.*, 42: 1112-1120
- LAST F.D. and DEIGHTON F.C., 1965: The non-parasitic microflora colonizing green leaves; their form and functions. *Trans. Brit. Mycol.Soc.*, 48: 83-99
- LATOUR X., CORBERAND T., LAGUERRE G., ALLARD F. and LEMANCEAU P., 1996: The composition of pseudomonad populations associated with roots by plant and soil type. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62: 2449-2456
- LAZAROVITS G. and NOWAK J., 1997: Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. *Hortscience*, 32: 188-192
- LEBEN C., 1981: How plant-pathogenic bacteria survive. *Plant Dis.*, 65: 633-637
- LEBEN S.D., WADI J.A. and EASTON G.D., 1987: Effects of *Pseudomonas fluorescens* on potato plant growth and control of *Verticillium dahliae*. *Phytopathol.*, 77: 1592-1595

- LEGARD D.E., MC QUILKEN M.P., WHIPPS J.M., FENLON J.S., FERMOR T.R., THOMPSON L.P., BAILEY M.J. and LYNCH J.M., 1994: Studies in the seasonal changes of microbial populations on the phyllosphere of spring wheat as a prelude to the release of a genetically modified microorganism. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 50: 87-110
- LEIGH J.A. and COPLIN D.L., 1992: Exopolysaccharides in plant-bacterial interactions. *Annu. Rev. Microbiol.*, 46: 307-346
- LEMANCEAU P., CORBERAND T., GARDAN L., LATOUR X., LAGUERRE L., BEAUFRAS J.M. and ALABOUVETTE C., 1995: Effect of two plant species, flax [*Linum usitatissimum* [sic] L.] and tomato [*Lycopersicon esculentum* Mill.], on the diversity of soilborne populations of fluorescent pseudomonads. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61: 1004-1012
- LEVEAU J.H.J. and LINDOW S.E., 2001: Appetite of an epiphyte: Quantitative monitoring of bacterial sugar consumption in the phyllosphere. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 98 (6): 3446-3453
- LILLEY A.K., FRY J.C., BAILEY M.J. and DAY M.J., 1996: Comparison of aerobic heterotrophic taxa isolated from four root domains of mature sugar beet (*Beta vulgaris*). *FEMS Microbiol. Ecol.*, 21: 231-242
- LINDOW S.E., 1991: Determinants of epiphytic fitness in bacteria. In: ANDREWS J.H. and HIRANO S.S. (Eds.), *Microbial Ecology of leaves*. Springer Verlag, New York, NY
- LINDOW S.E., 1996: Aerial Plant Surface Microbiology. In: MORRIS C.E., NICOT P.C. and NGUYEN-THE C. (Eds.) *Plenum*, New York
- LIU D., 1992: Biological control of *Streptomyces scabies* and other plant pathogens. Ph.D thesis, University of Minnesota, St. Paul, MN
- LIU D., ANDERSON N.A. and KINKEL L.L., 1995: Biological control of potato scab in the field with antagonistic *Streptomyces scabies*. *Phytopathol.*, 85: 827-831
- LIU L., KLOEPPER J.W. and TUZUN S., 1995a: Induction of systemic resistance in cucumber against bacterial angular leaf spot by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathol.*, 85:843-847
- LIU L., KLOEPPER J.W. and TUZUN S., 1995b: Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathol.*, 85:695-698
- LOEFFLER W., KATZER W., KREMER S., KUGLER M., PETERSEN F., JUNG G., RAPP C. and TSCHEN J. S.-M., 1990: Gegen Pilze wirksame Antibiotika der *Bacillus subtilis*-Gruppe. *Forum Mikrobiol.*, 13: 156-163
- LOPER J.E. and SCHROTH M.N., 1986: Influence of bacterial sources of inole-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. *Phytopathol.* 76:386-398
- LUDWIG J.A. and REYNOLDS J.F., 1988: Statistical ecology. A primer on methods and computing. John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane Toronto, Singapore.
- LUGTENBERG B.J.J., DEKKERS L. and BLOEMBERG G.V., 2001: Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 39: 461-490
- MAHAFFEE, W.F. and KLOEPPER, J.W., 1997a: Temporal changes in the bacterial communities of soil, rhizosphere and endorhiza associated with field-grown cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Microb. Ecol.*, 34: 210-223

- MAHAFFEE W.F. and KLOEPPER J.W., 1997b: Bacterial communities of the rhizosphere and endorhiza associated with field-grown cucumber and plants inoculated with a plant growth-promoting rhizobacterium or its genetically modified derivative. *Can. J. Microbiol.*, 43: 344-353
- MAHAFFEE J.W., KLOEPPER J.W., VAN VUURDE J.W.L., VAN DER WOLF J.M. and VAN DEN BRINK M., 1997c: Endophytic colonization of *Phaseolus vulgaris* by *Pseudomonas fluorescens* strain 89B-27 and *Enterobacter asburiae* strain JM 22. In: RYDER M.H., STEPHENS P.M. and BOWEN G.D. (Eds.), Improving plant productivity in rhizosphere bacteria. CSIRO Melbourne, Australia
- MANSFIELD J.W. and BROWN J.R., 1986: The biology of interactions between plants and bacteria. NATO ASI Series 1, 71.98
- MANSVELT E.L. and HATTINGH M.J., 1987: Scanning electron microscopy of colonization of pear leaves by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Can. J. Bot.*, 65: 2517-2522
- MARGALEF R., 1958: Information theory in ecology. *General Systematics*, 3: 36-71
- MARIANO R.L.R. and MCCARTER S.M., 1993: Epiphytic survival of *Pseudomonas viridiflava* on tomato and selected weed species. *Microb. Ecol.*, 26: 47-58
- MARTINEZ-OCHOA N., KOKALIS-BURELLE N., RODRIGUEZ-KÁBANA R. and KLOEPPER J.W., 2000: Microbes in transplant mix boost yields. *Agric. Res.*, 48 (10): 23
- MAURHOFER M., KEEL C., SCHNIDER U., VOISARD C., HAAS D. and DÉFAGO G., 1992: Influence of enhanced antibiotic production in *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO on its disease suppressive capacity. *Phytopathol.* 82: 190-195
- MC ARTHUR J.V., KOVACICK, D.A. and SMITH M.H., 1988: Genetic diversity in natural populations of a soil bacterium across a landscape gradient. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, pp. 9621-9624
- MC CLURE M.A., 1977: *Meloidogyne incognita*: A metabolic sink. *J. Nematol.*, 9 (1): 89-90
- MCINROY J.A. and KLOEPPER J.W., 1994: Studies on indigenous endophytic bacteria of sweet corn and cotton. In: O'GARA F. DOWLING D.N. and BOESTEN B. (Eds.) *Molecular ecology of rhizosphere microorganisms*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany
- MCINROY J.A. and KLOEPPER J.W., 1995a: Population dynamics of endophytic bacteria in field-grown sweet corn and cotton. *Can. J. Microbiol.*, 41: 895-901
- MCINROY J.A. and KLOEPPER J.W., 1995b: Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. *Plant and Soil*, 173: 337-342
- MEYER S.L.F., MASSOUD D.J., CHITWOOD D.J. and ROBERTS D.P., 2000: Evaluation of *Trichoderma virens* and *Burkholderia cepacia* for antagonistic activity against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Nematology*, 2: 871-879
- MEYER S.L.F., ROBERTS D.P., CHITWOOD D.J., CARTA L.K., LUMSDEN R.D. and MAO W., 2001: Application of *Burkholderia cepacia* and *Trichoderma virens*, alone and in combinations, against *Meloidogyne incognita* on bell pepper. *Nematropica*, 31: 75-86
- MEYER L.F. and ROBERTS D.P., 2002: Combinations of biocontrol agents for management of plant-parasitic nematodes and soilborne plant-pathogenic fungi. *J. Nematol.*, 34 (1): 1-8

- MIETHLING R., WIELAND G., BACKHAUS H. and TEBBE C.C., 2000: Variation of microbial rhizosphere communities in response to crop species, soil origin and inoculation with *Sinorhizobium meliloti* L33. *Microb. Ecol.*, 41: 43-56
- MILLER H.J., HENKEN G. and VAN VEEN J.A., 1989: Variation and composition of bacterial populations in the rhizospheres of maize. *Can. J. Microbiol.*, 35: 656-660
- MISHAGI I. and DONDELINGER L.R., 1990: Endophytic bacteria in symptom-free cotton plants. *Phytopathol.*, 80: 808-811
- MUNIF A., 2001: Studies on the importance of endophytic bacteria for the biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato. Dissertation, Universität Bonn, Germany
- MUNIF A., HALLMANN J. and SIKORA R.A., 2001: Induced systemic resistance of selected endophytic bacteria against *Meloidogyne incognita* on tomato. *Med.Fac. Landbouww. Univ. Gent 66/2b*: 663-669
- NEHL B.B., ALLEN S.J. and BROWN J.F., 1997: Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective. *Appl. Soil Ecol.*, 5: 1-20
- NETSCHER C. and SIKORA R.A., 1990: Nematode parasites on vegetables. In: LUC M., SIKORA R.A. and BRIDGE J. (Eds.), *Plant Parasitic Nematode in Subtropical and Tropical Agriculture*. CAB International, Wallingford, UK
- NOWAK J., ASIEDU S.K., LAZAROVITS G., PILLAY V., STEWART A., SMITH C. and LIU Z., 1995: Enhancement of *in vitro* growth and transplant stress tolerance of potato and vegetable plantlets co-cultured with a plant growth promoting pseudomonad bacterium. In: CARRE F. and CHAGVARDIEFF P. (Eds.), *Ecophysiology and photosynthetic in vitro cultures*. Commissariat à l'énergie atomique, France
- OOSTENDORP M. and SIKORA R.A., 1989: Seed treatment with antagonistic rhizobacteria for the suppression of *Heterodera schachtii* early root infection of sugar beet. *Revue Nematol.*, 12 (1): 77-83
- OPHIR T. and GUTNICK D.L., 1994: A role of exopolysaccharides in the protection of microorganisms from desiccation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60: 740-745
- OWNLEY B.H., WELLER D.M. and ALDREDGE, 1992: Relation of soil chemical and physical factors with suppression of take-all by *Pseudomonas fluorescens* 2-79. In: KEEL C., KOLLER B. AND DEFAGO G. (Eds.), *Plant growth promoting rhizobacteria-progress and prospects* IOBC/WPRS Bull., 14
- PAL K.K., TILAK K.V.B.R., SAXENA A.K., DEY R. and SINGH C.S., 2000: Antifungal characteristics of a fluorescent *Pseudomonas* strain involved in the biological control of *Rhizoctonia solani*. *Microbiol. Res.*, 155: 233-242
- PARMETER J.R., 1970: *Rhizoctonia solani*, Biology and Pathology. University of California Press, Berkley CA.
- PARK K.S. and KLOPPER J.W., 2000: Activation of PR-1a promoter by rhizobacteria which induce systemic resistance in tobacco against *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. *Biol. Contr.*, 18: 2-9
- PIERSON E.A. and WELLER D.M., 1994: Use of mixtures of fluorescent pseudomonads to suppress take-all and improve the growth of wheat. *Phytopathol.*, 84: 940-947

- PLEBAN S., INGEL F. and CHET I., 1995: Control of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* in the greenhouse using endophytic *Bacillus* spp. *Europ. J. Plant Pathol.*, 101: 665-672
- QUADT-HALLMANN A. and KLOEPPER J.W., 1996: Immunological detection and localization of the cotton endophyte *Enterobacter asburiae* JM 22 in different plant species. *Can. J. Microbiol.*, 42: 1144-1154
- QUADT-HALLMANN A., BENHAMOU N. and KLOEPPER J.W., 1997a: Bacterial endophytes in cotton: mechanisms of entering the plant. *Can. J. Microbiol.*, 43: 577-582
- QUADT-HALLMANN A., HALLMANN J. and KLOEPPER J.W., 1997b: Bacterial endophytes in cotton: location and interaction with other plant associated bacteria. *Can. J. Microbiol.*, 43: 254-259
- RACKE J. and SIKORA R.A., 1992: Isolation, formulation and antagonistic activity of rhizobacteria toward the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Soil Biol. Biochem.*, 24 (6): 521-526
- RADTKE W. and RIECKMANN W. (Eds.), 1990: Krankheiten und Schädlinge der Kartoffel, Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen-Buer
- RAJ S.N., CHALUVARAJU G., AMRUTHESH K.N., SHETTY H.S., REDDY M.S. and KLOEPPER J.W., 2003: Induction of growth promotion and resistance against downy mildew on pearl millet (*Pennisetum glaucum*) by rhizobacteria. 87 (4): 380-384
- RAJAPPAN K., VIDHYASEKARAN P., SETHURAMAN K. and BASKARAN T.L., 2002: Development of powder and capsule formulations of *Pseudomonas fluorescens* strain PF-1 for control of banana wilt. *J. Plant Dis. Prot.*, 109 (1): 80-87
- RAUPACH G.S., LIU L., MURPHY J.F., TUZUN S. and KLOEPPER J.W., 1996: Induction of systemic resistance in cucumber and tomato against cucumber mosaic virus using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Plant Dis.*, 80: 891-894
- RAUPACH G.S. and KLOEPPER J.W., 1998: Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathol.*, 88: 1158-1164
- RAYNER A.D.M., 1997: Degrees of Freedom: Living in dynamic boundaries. Imperial College Press, London, pp. 312
- REINHOLD B. and HUREK T., 1988: Location of diazotrophs in the interior with special attention to the kallar grass association. *Plant Soil*, 145: 259-268
- REITER B., PFEIFER U., SCHWAB H. and SESSITSCH A., 2002: Response of endophytic bacterial communities in potato plants to infection with *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* Appl. *Environ. Microbiol.*, 68 (5): 2261-2268
- REITZ M., 1999: Biochemische und molekularbiologische Untersuchungen zur bakterieninduzierten systemischen Resistenz in Kartoffeln gegenüber dem Zystennematoden *Globodera pallida*. Dissertation, Universität Bonn, Germany
- REITZ M., RUDOLPH K., SCHRÖDER I., HOFFMANN-HERGARTEN S., HALLMANN J. and SIKORA R.A., 2000: Lipopolysaccharides of *Rhizobium etli* strain G12 act in potato roots as an inducing agent of systemic resistance to infection by the cyst nematode *Globodera pallida*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 3515-3518



- REITZ M., HOFFMANN-HERGARTEN S., HALLMANN J. and SIKORA R.A., 2001: Induction of systemic resistance in potato by rhizobacterium *Rhizobium etli* strain G12 is not associated with accumulation of pathogenesis-related proteins and enhanced lignin biosynthesis. *Journal Plant Dis. Prot.* 108 (1): 11-20
- REITZ M., OGER P., MEYER A., NIEHAUS K., FARRAND S.K., HALLMANN J. and SIKORA R.A., 2002: Importance of the O-antigen, core-region and lipid A of rhizobial lipopolysaccharides for the induction of systemic resistance in potato to *Globodera pallida*. *Nematology*, 4: 73-79
- REUVENI R., 1995: Novel approaches to integrated pest management. Lewis Publishers, Boca Raton, FL
- SABARATNAM S. and TRAQUAIR J.A., 2002: Formulation of a *Streptomyces* biocontrol agent for the suppression of *Rhizoctonia* damping-off in tomato transplants. *Biol. Contr.*, 23 (3): 245-253
- SALERNO C.M., MONTERO M.C. and SAGARDOY M.A., 1997: Dynamics of bacteria from the phyllosphere and leaves of soy. *Rev. Arg. Microbiol.*, 29: 122-130
- SAMALIEV H.Y., ANDREOGLOU F.I., ELAWAD S.A., HAGUE N.G.M. and GOWEN S.R., 2000: The nematicidal effects of the bacteria *Pseudomonas oryzihabitans* and *Xenorhabdus nematophilus* on the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Nematology*, 2 (5): 507-514
- SASSER J.N., 1980: Root-knot nematodes: a global menace to crop production. *Plant Dis.* 64: 36-41
- SASSER M., 1990: Identification of bacteria through fatty acid analysis. In: KLEMENT Z., RUDOLPH K. and SAND S. (Eds.), *Methods in Phytobacteriology*. Akademiai Kiado, Budapest
- SAYRE R.M. and WALTER D.E., 1991: Factors affecting the efficacy of natural enemies of nematodes. *J. Nematol., Annu. Rev. Phytopathol.*, 29: 149-166
- SCHMIEDEKNECHT G., ISSOUFOU I., JUNGE H. and BOCHOW H., 2001: Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. V. Biological control of diseases on maize and sunflowers. *J. Plant Dis. Plant Prot.*, 108 (5): 500-512
- SCHOLTE K. and JAKOB J., 1989: Synergistic interactions between *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Verticillium dahliae* Kleb., *Meloidogyne* spp. and *Pratylenchus neglectus* (Rensch) Chitwood & Oteifa, on potato. *Potato Res.*, 32: 387-395
- SCHOTTEL J.L., SHIMIZU K. and KINKEL L.L., 2001: Relationship of *in vitro* pathogen inhibition and soil colonization to potato scab biocontrol by antagonistic *Streptomyces* spp. *Biol. Contr.*, 20: 102-112
- SCHREIBER L.R., GREGORY G.F., KRAUSE C.R. and ICHIDA J.M., 1988: Production, partial purification and antimicrobial activity of a novel antibiotic produced by *Bacillus subtilis* isolate from *Ulmus americana*. *Can. J. Bot.*, 66: 2338-2346
- SCHROTH M.N. and HANCOCK J.G., 1982: Disease-suppressive soil and root colonizing bacteria. *Science*, 216: 1376-1381
- SHISHIDO M., LOEB B.M. and CHANWAY C.P., 1995: External and internal root colonization of lodgepole pine seedlings by two growth promoting *Bacillus* strains originated from different root microsites. *Can.J. Microbiol.*, 41: 707-713

- SESSITSCH A., REITER B., PFEIFER U. and WILHELM E., 2002: Cultivation-independent population analysis of bacterial endophytes in three potato varieties based on eubacterial and Actinomycetes-specific PCR of 16S rDNA genes. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 39 (1): 23-32
- SHANNON C.E. and WEAVER W., 1949: The mathematical theory of communication. Urbana IL: The University of Illinois Press
- SICILIANO S.D., THEORET C.M., DE FREITAS J.R., HUCL P.J. and GERMIDA J.J., 1998: Differences in the microbial communities associated with the roots of different cultivars of canola and wheat. *Can. J. Microbiol.*, 44: 844-851
- SIDDIQUI I.A. and MAHMOOD I., 1993: Biological control of *Meloidogyne incognita* race 3 and *Macrophomina phaseolina* by *Paecilomyces lilacinus* and *Bacillus subtilis* alone and in combination on chickpea. *Fund. Appl. Nematol.*, 16: 215-218
- SIDDIQUI I.A. and MAHMOOD I., 1995: Management of *Meloidogyne incognita* race 3 and *Macrophomina phaseolina* by fungus culture filtrates and *Bacillus subtilis* on chickpea. *Fund. Appl. Nematol.*, 18: 71-76
- SIDDIQUI I.A. and MAHMOOD I., 1999: Role of bacteria in the management of plant-parasitic nematodes: A review. *Biores. Technol.*, 69:167-179
- SIDDIQUI I.A., EHTESHAMUL-HAQUE S. and SHAUKAT S.S., 2001: Use of rhizobacteria in the control of root-knot disease complex of mungbean. *J. Phytopathol.*, 149 (6): 337-346
- SIDDIQUI I.A. and EHTESHAMUL-HAQUE S., 2001: Suppression of the root rot-root knot disease complex by *Pseudomonas aeruginosa* in tomato: the influence of inoculum density, nematode populations, moisture and other plant-associated bacteria. *Plant and Soil*, 237: 81-89
- SIDDIQUI I.A. and SHAUKAT S.S., 2002a: Rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance (ISR) in tomato against *Meloidogyne javanica*. *J. Phytopathol.*, 150: 469-473
- SIDDIQUI I.A. and SHAUKAT S.S., 2002b: Resistance against the damping-off fungus *Rhizoctonia solani* systemically induced by the plant-growth-promoting rhizobacteria *Pseudomonas aeruginosa* (IE-6S+) and *P. fluorescens* (CHA0). *J. Phytopathol.*, 150: 500-506
- SIDDIQUI I.A. and SHAUKAT S.S., 2003: Endophytic bacteria: prospects and opportunities for the biological control of plant-parasitic nematodes. *Nematol. Medit.*, 31: 111-120
- SIMPSON E.H., 1949: Measurement of diversity. *Nature*, 163: 688
- SIKORA R.A., 1988: The concept of using plant health promoting rhizobacteria for the biological control of plant-parasitic nematodes. *Proc. 2<sup>th</sup> Intern. Workshop on plant growth promoting rhizobacteria*, Interlaken, Switzerland, pp. 3-10
- SIKORA R.A., 1992: Management of the antagonistic potential in agriculture ecosystem for the biological control of plant parasitic nematodes. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 30: 245-270
- SIKORA R.A. and HOFFMANN-HERGARTEN S., 1993: Biological control of plant-parasitic nematodes with plant health promoting rhizobacteria. In: LUMSDEN R.D. AND VAUGHN J.L. (Eds.), *Pest management: Biologically based technologies. Proceedings of Beltsville Symposium XVIII*. Washington DC: American Chemical Society

- SITTERLY W.R. and FASSULIOTIS G., 1965: Potato losses in South Carolina due to the cotton root-knot nematode *Meloidogyne incognita* acrita. Plant Dis. Rep., 49: 723
- SPIEGEL Y. and MC CLURE M.C., 1991: Stage specific differences in lectin binding to the surface of *Anguina tritici* and *Meloidogyne incognita*. J.Nematol., 23: 259-263
- SPRENT J.I. and DE FARIA S.M., 1988: Mechanisms of infections of plants by nitrogen fixing organisms. Plant and Soil, 110: 157-165
- STADLER B. and MÜLLER T., 2000: Effects of aphids and moth caterpillars on epiphytic microorganisms in canopies of forest trees. Can. J. Forest Res., 30: 631-638
- STIRLING G.R., 1991: Biological control of plant parasitic nematodes. CAB International Wallingford, UK
- STURZ A.V., 1995: The role of endophytic bacteria during seed piece decay and potato tuberization. Plant and Soil, 175: 257-263
- Sturz A.V. and Christie B.R., 1995: Endophytic bacterial systems governing red clover growth and development. Ann. Appl. Biol., 126: 285-290
- Sturz A.V. and Christie B.R., 1996: Endophytic bacteria of red clover as causal agents of allelopathic clover-maize syndromes., Soil Biol. Biochem., 28: 583-588
- STURZ, A.V. and MATHESON, B.G., 1996: Populations of endophytic bacteria which influence host-resistance to *Erwinia*-induced bacterial soft rot in potato tubers. Plant and Soil, 184: 265-271
- STURZ A.V.; CHRISTIE B.R.; MATHESON B.G. and NOVAK J., 1997: Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth. Biol. Fertil. Soils, 25: 13-19
- STURZ A.V.; CHRISTIE B.R. and MATHESON B.G., 1998: Associations of bacterial endophyte populations from red clover and potato crops with potential for beneficial allelopathy. Can. J. Microbiol., 44: 162-167
- STURZ A.V., CHRISTIE B.R., MATHESON B.G., ARSENAULT W.J. and BUCHANAN N.A., 1999: Endophytic bacterial communities in the periderm of potato tubers and their potential to improve resistance to soil-borne plant pathogens. Plant Pathol., 48: 360-369
- STURZ A.V., CHRISTIE B.R. and NOWAK J., 2000: Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop protection. Crit. Rev.Plant Sci., 19 (1): 1-30
- STURZ A.V., MATHESON B.G., ARSENAULT W., KIMPINSKI J. and CHRISTIE, B.R., 2001: Weeds as a source of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural soils. J. Microbiol., 47: 1013-1024
- SUNDIN G.W. and JACOBS J.L., 1999: Ultraviolet radiation (UVR) sensitivity analysis and UVR survival strategies of a bacterial community from the phyllosphere of field-grown peanut (*Arachis hypogaea* L.). Microb. Ecol., 38: 27-38
- SURETTE M.A., STURZ A.V., LADA R.R. and NOWAK J., 2003: Bacterial endophytes in processing carrots (*Daucus carota* L. var. *sativus*): their localization, population density, biodiversity and their effects on plant growth. Plant and Soil, 253 (2): 381-390

- THOMPSON I.P., BAILEY M.J., FENLON J.S., FERMOR T.R., LILLEY A.K., LYNCH J.M., MCCORMACK P.J., MCQUILKEN M.P., PURDY K.J., RAINEY P.B. and WHIPPS J.M., 1993: Quantitative and qualitative seasonal changes in the microbial community from the phyllosphere of sugar beet (*Beta vulgaris*). Plant and Soil, 150: 177-191
- TINKER P.B., 1984: The role of microorganisms in mediating and fasciliating the uptake of plant nutrients from soil. Plant and Soil, 76: 77-91
- TUKEY H.B. JR., 1970: The leakage of substances from plants. Annu. Rev. Plant Physiol., 21: 305-324
- VAN BUREN A.M., ANDRE C and ISHIMARU C.A., 1993: Biological control of the bacterial ring rot pathogen by endophytic bacteria isolated from potato. Phytopathol., 83: 1406
- VIDHYASEKARAN P., SETHURAMAN K., RAJAPPAN K. and VASUMATHI K., 1997: Powder formulations of *Pseudomonas fluorescens* to control pigeonpea wilt. Biol. Contr., 8 (3):166-171
- WALLWORK H., 1996: Cereal root and crown diseases. Kondinin Group, Perth, Australia, pp. 14-16
- WEI G., KLOEPPER J.W. and TUZUN S., 1996: Induced systemic resistance to cucumber disease and increased plant growth by plant growth promoting rhizobacteria under field conditions. Phytopathol., 26: 221-224
- WEINHOLD A.R. and BOWMAN T., 1968: Selective inhibition of the potato scab pathogen by antagonistic bacteria and substrate influence on antibiotic production. Plant and Soil, 27: 12-14
- WELLER D.M. and SAETTLER A.W., 1980: Colonization and distribution of *Xanthomonas phaseoli* and *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* in field-grown navy beans. Phytopathol., 70: 500-506
- WELLER D.M., ZHANG B.X. and COOK R.J., 1985: Application of a rapid screening test for selection of bacteria suppressive to take-all of wheat. Plant Dis., 68: 710-713
- WELLER D.M., 1988: Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Annu. Rev. Phytopathol., 26: 379-407
- WIEHE W., HECHT-BUCHHOLZ C. and HÖFLICH G., 1994: Electron microscopic investigations on root colonization of *Lupinus albus* and *Pisum sativum* with two associative plant growth promoting rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. Symbiosis, 17: 15-31
- WILSON M. and BACKMAN P.A., 1999: Biological control of plant pathogens. In: Ruberson J.R. (Ed.), Handbook of Pest Management. Marcel Dekker Publishers, New York
- WYSS U., GRUNDLER F.M.W. and MÜNCH A., 1992: The parasitic behaviour of second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita* in roots of *Arabidopsis thaliana*. Nematologica, 38: 99-111
- YAN Z.N., REDDY M.S., RYU C.M., MCINROY J.A., WILSON M. and KLOEPPER J.W., 2002: Induced systemic protection against tomato late blight elicited by plant growth-promoting rhizobacteria. Phytopathol., 92 (12): 1329-1333

---

YANG C.-H., CROWLEY D.E., BORNEMAN J. and KEEN N.T., 2001: Microbial phyllosphere populations are more complex than previously realized. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 98 (7): 3889-3894

YU J., PENALOZA-VAZQUEZ A., CHAKRABARTY A.M. and BENDER C.L., 1999: Involvement of the exopolysaccharide alginate in the virulence and epiphytic fitness of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Mol. Microbiol.*, 33: 712-720

## 6 Anhang

## Anhang I

Übersicht der identifizierten Isolate auf Gattungsebene in Abhängigkeit von Habitat, Vegetationsstadium und Vegetationsperiode, Übersicht 2001

Gattung	Jugend				Blüte				Reife			
	1R	1P	1RE	1PE	2R	2P	2RE	2PE	3R	3P	3RE	3PE
<i>Acidovorax</i>									1			
<i>Acinetobacter</i>								1				
<i>Agrobacterium</i>	2		3	35	5		21		3		13	
<i>Alcaligenes</i>											1	
<i>Arthrobacter</i>	9	12	12		13	19	3	2		1		
<i>Aureobacterium</i>	4	0	1		3	1				3	2	1
<i>Bacillus</i>	11	53	23	2	16	26	7	30	2	6		
<i>Bradyrhizobium</i>			1									
<i>Brevibacterium</i>	2	1			2	2		2		1		
<i>Brevundimonas</i>	4							1				
<i>Burkholderia</i>					1	1						
<i>Cedecea</i>		8		17						1		
<i>Cellulomonas</i>	2	4	4	1	1	3	1	6	5	4	1	1
<i>Chryseobacterium</i>	3				1	1			1	1	1	
<i>Citrobacter</i>												
<i>Clavibacter</i>	4	3	1	3	1	3		4		14		6
<i>Comamonas</i>									3			
<i>Corynebacterium</i>			1		1				1	1	1	
<i>Curtobacterium</i>	1	4				3	1	8		7		29
<i>Cytophaga</i>	1	1			3				1			
<i>Deinococcus</i>												
<i>Enterobacter</i>	1											
<i>Enterococcus</i>												
<i>Erwinia</i>	7						1	9			5	
<i>Flavobacterium</i>	7		2		2		1		12			
<i>Janthinobacterium</i>												1
<i>Klyuvera</i>												
<i>Kurthia</i>		1										
<i>Lactobacillus</i>					1	1		1				
<i>Methylobacterium</i>			1				5			5		5
<i>Microbacterium</i>			1									
<i>Micrococcus</i>	10	5	14	1	4	8		4	3	8	5	9
<i>Micromonospora</i>												
<i>Moraxella</i>												
<i>Nocardia</i>		2				1						
<i>Nocardiodides</i>			2					1				
<i>Nocardiosis</i>												
<i>Ochrobactum</i>												
<i>Oerskovia</i>											1	
<i>Paenibacillus</i>		4	1		6	2	2		1			
<i>Pantoea</i>	2			4		2		2	4	2	6	1
<i>Paracoccus</i>	3				4						2	
<i>Pedicoccus</i>					1							
<i>Phyllobacterium</i>												
<i>Pseudomonas</i>	9	2			11	8	81	14	13	5	35	7
<i>Rhanella</i>												
<i>Rhodobacter</i>	1											1
<i>Rhodococcus</i>	1				2	1				1		1
<i>Serratia</i>						1					2	
<i>Sphingobacterium</i>	6				7				2		5	
<i>Sphingomonas</i>								2	2			
<i>Staphylococcus</i>	2				1	3		4	1			

Fortsetzung **Anhang1** Übersicht **2001**

Gattung	Jugend				Blüte				Reife			
	1R	1P	1RE	1PE	2R	2P	2RE	2PE	3R	3P	3RE	3PE
<i>Stenotrophomonas</i>	8				11	4	9		5		34	1
<i>Streptomyces</i>		2	1		4	5			1			
<i>Variovorax</i>	3				4	1	2		7		1	
<i>Xanthobacter</i>	1								1			
<i>Yersinia</i>												
<b>A</b>	4	3	4	2	9	3	4	24	16	16	3	16
<b>B</b>	1				1				2			
<b>C</b>									1			
<b>D</b>	1						1					2
<b>E</b>						1						
<b>F</b>			1									
<b>G</b>										1		
<b>H</b>		1	2									
<b>I</b>		1	2									
<b>J</b>			2									
<b>K</b>		8						1				
<b>L</b>						3						
<b>M</b>	2								1			
<b>N</b>	1								1			
<b>O</b>		1	1									
<b>P</b>	1	4	4					1				
<b>Q</b>	3	3	5	1	4		1	2	13			
<b>R</b>		1				1	1					
<b>S</b>						1			1			
<b>T</b>						1						
<b>U</b>						1						
<b>V</b>								1				1
<b>W</b>		6	2		4	5	1	1				25
<b>X</b>		1				2						1
<b>Y</b>	2				5	3		1	3	20		11
<b>Z</b>										1		
<b>AA</b>		1	1	1	2	1	2	4				
<b>AB</b>										1		
<b>AC</b>					1							
<b>AD</b>					1					2		
<b>AE</b>						1		1				
<b>AF</b>				1								
<b>Summe Isolate</b>	<b>119</b>	<b>132</b>	<b>92</b>	<b>68</b>	<b>132</b>	<b>119</b>	<b>144</b>	<b>127</b>	<b>107</b>	<b>101</b>	<b>118</b>	<b>119</b>
<b>Anzahl Gattungen</b>	<b>33</b>	<b>25</b>	<b>26</b>	<b>11</b>	<b>32</b>	<b>32</b>	<b>18</b>	<b>26</b>	<b>28</b>	<b>25</b>	<b>17</b>	<b>18</b>

Fortsetzung **Anhang I Übersicht 2002**

Gattung	Jugend				Blüte				Reife			
	4R	4P	4RE	4PE	5R	5P	5RE	5PE	6R	6P	6RE	6PE
<i>Acidovorax</i>									1			
<i>Acinetobacter</i>												
<i>Agrobacterium</i>	2	1	1		1		4		2		1	
<i>Alcaligenes</i>					2						2	
<i>Arthrobacter</i>	7		3		11	3	5	2	4	10	2	2
<i>Aureobacterium</i>	6	3	1		3				1	2	1	1
<i>Bacillus</i>	10	93	22	3	20	40	9	11	22	16	7	3
<i>Bradyrhizobium</i>												
<i>Brevibacterium</i>	1							1		1		
<i>Brevundimonas</i>												
<i>Burkholderia</i>												
<i>Cedecea</i>												
<i>Cellulomonas</i>	1		4			1		5	1	3	1	
<i>Chryseobacterium</i>					1				1			
<i>Citrobacter</i>	1							1				
<i>Clavibacter</i>		2			2	1		1		5		
<i>Comamonas</i>	3				2							
<i>Corynebacterium</i>										3		
<i>Curtobacterium</i>		1			1	1		4		11		42
<i>Cytophaga</i>	8				4		3		4	2		
<i>Deinococcus</i>						1						
<i>Enterobacter</i>									1		11	
<i>Enterococcus</i>										1		1
<i>Erwinia</i>					1						1	
<i>Flavobacterium</i>	2				2				4	1		
<i>Janthinobacterium</i>				2								
<i>Klyuvera</i>								1			2	
<i>Kurthia</i>											1	
<i>Lactobacillus</i>												
<i>Methylobacterium</i>			3	15		1	1	3		1		
<i>Microbacterium</i>												
<i>Micrococcus</i>	6	2	5	4	1	1	2	24	4	4		7
<i>Micromonospora</i>										1		
<i>Moraxella</i>												5
<i>Nocardia</i>			1		1			2		2	1	
<i>Nocardioides</i>									1			
<i>Nocardiopsis</i>	1											
<i>Ochrobactum</i>										1		
<i>Oerskovia</i>												
<i>Paenibacillus</i>		2	1	2		4	1			1		
<i>Pantoea</i>	1				1		13	10		3		5
<i>Paracoccus</i>												
<i>Pedicoccus</i>												
<i>Phyllobacterium</i>			5									
<i>Pseudomonas</i>	13				12	33	78	8	20	7	83	3
<i>Rhanella</i>												1
<i>Rhodobacter</i>				8						1		
<i>Rhodococcus</i>	1				1	1				11	2	
<i>Serratia</i>					1						7	
<i>Sphingobacterium</i>	11				9		1		14	4		
<i>Sphingomonas</i>					2				1		1	
<i>Staphylococcus</i>	1		1		4	2	1	12	2		1	1



Fortsetzung **Anhang I Übersicht 2002**

Gattung	Jugend				Blüte				Reife			
	4R	4P	4RE	4PE	5R	5P	5RE	5PE	6R	6P	6RE	6PE
<i>Stenotrophomonas</i>	6	1	4	1	9		3		2	1	2	
<i>Streptomyces</i>	9		3		16	2		1	12		3	
<i>Variovorax</i>	4				9	1	13		4			
<i>Xanthobacter</i>			4				1	1		1		
<i>Yersinia</i>		11		1	2					1		
A	3	1			3	1			9	1		
B	1								1			
C	3		2			7	1	1	3	1	1	
D			1									
E	1											
F									1			
G	3				1	1				1		
H	1					1			2			
I	1							1				
J						1						
K									1			
L	2								1			
M					3				4			
N					3							
O					1	3				1	1	
P	1				1	1	1	1				
Q	2	1	4		2	4	1	4	1	11	1	8
R		1										
S	1				2				8		1	
T	1				1				1	1		
U			1									
V						1						
W										1		
X					1	1						
Y										3		
Z			3			3				1		
AA					1	1						1
AB					3		1		3		2	
AC	3		3		4	3	2	6	2	15	2	3
AD					1							
AE												
AF												
Summe Isolate	117	119	72	36	145	120	141	100	138	130	137	83
Anzahl Gattungen	32	12	20	8	39	27	19	21	31	34	23	14

R=Rhizosphäre, P=Phyllosphäre, RE= Endorhiza, PE=Endosphäre

## Anhang II

Übersicht über die Isolate mit antagonistischer Wirkung gegenüber *Verticillium dahliae* (V.d.) und *Rhizoctonia solani* (R.s.) *in vitro* 2001

Probe	Habitat	V.d.	R.s.	Art	S-Index
Jugend	EC 20				
1R1 - 2	R	-	+	<i>Bacillus megaterium</i>	0,766
1R1 - 18	R	+	++	<i>Flavobacterium resinovororum</i>	0,207
1R1 - 22A	R	+++	+++	<i>Micrococcus kristinae</i>	0,672
1R2 - 14	R	+	+	<i>Curtobacterium pusillum</i>	0,46
1R2 - 17	R	++	++	<i>Flavobacterium odoratum</i>	0,082
1R3 - 5	R	-	+	<i>Erwinia amylovora</i>	0,589
1R3 - 18	R	-	+	<i>Erwinia amylovora</i>	0,499
1R3 - 30	R	-	+		
1R3 - 37	R	-	+		
1R3 - 38	R	-	+	<i>Erwinia amylovora</i>	0,533
1R3 - 40	R	-	+	<i>Erwinia amylovora</i>	0,523
1R4 - 20	R	+	+	no match	
1P1 - 2	P	+++	+++	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	0,839
1P1 - 3	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,815
1P1 - 28	P	-	+	<i>Amycolatopsis orientalis</i>	0,012
1Re3 - 21	RE	+	++		
1Pe1 - 9	PE	-	+	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0,836
1Pe1 - 14	PE	+++	+++	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0,529
1Pe2 - 5	PE	-	+	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0,82
1Pe4 - 13	PE	+++	+++	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0,844
Blüte	EC 60				
2R1- 1	R	-	++	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0,39
2R1- 7	R	+++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,94
2R1- 29	R	+++	++	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0,05
2R1- 35	R	+++	-		
2R2- 11	R	+++	+++	<i>Arthrobacter oxydans</i>	0,53
2R2- 12	R	++	++	<i>Arthrobacter ilicis</i>	0,84
2R2- 14	R	++	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,76
2R2- 15	R	++	++	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,59
2R2- 24	R	+++	++	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0,74
2R3- 13	R	-	++	<i>Arthrobacter protoformiae/ramosus</i>	0,79
2R3- 18	R	++	++	<i>Streptomyces aureofaciens</i>	0,3
2R4- 11	R	-	++	<i>Nocardia brasiliensis</i>	0,09
2R4- 19	R	-	+	<i>Variovorax paradoxus</i>	0,67
2R4- 24	R			<i>Corynebacterium aquaticum</i>	0,12
2R4- 25	R	-	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,91
2R4- 26	R	-	++	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>	0,59
2P1- 13	P	-	++		
2P2- 17	P	-	++	<i>Pseudomonas savastanoi</i>	0,45
2P3- 16	P	-	++	<i>Bacillus pumilus</i>	0,965
2P3- 17	P	-	++	<i>Serratia proteamaculans</i>	0,653
2P3- 18	P	-	++	<i>Arthrobacter protoformiae/ramosus</i>	0,715
2P3- 25	P	-	++	<i>Arthrobacter globiformis</i>	0,57
2P4- 3	P	-	++	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	0,729
2P4- 4	P	-	++	<i>Bacillus mycoides</i>	0,25
2P4- 9	P	-	++	<i>Arthrobacter globiformis</i>	0,193
2P4- 11	P	-	++	<i>Cellulomonas turbata</i>	0,113
2P4- 15	P	-	++	<i>Bacillus pumilus</i>	0,86

Fortsetzung **Anhang II:** Antagonistische Isolate in **2001**

Probe	Habitat	V.d.	R.s.	Art	S-Index
Blüte	EC 60				
2Re1-6	RE	-	+	<i>no match</i>	
2Re1-12	RE	-	+	<i>Bacillus feudenreichii</i>	0,224
2Re1-16	RE	-	+		
2Re1-18	RE	-	++	<i>Pseudomonas rubrisualbicans</i>	0,019
2Re2-6	RE	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,837
2Re2-31	RE	-	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,759
2Re2-34	RE	-	+	<i>Variovorax paradoxus</i>	0,598
2Re3-13	RE	-	+	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,79
2Re3-18	RE	-	+	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,827
2Re3-25	RE	-	+	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,902
2Re4-1	RE	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,917
2Re4-4	RE	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,94
2Re4-6	RE	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,934
2Re4-7	RE	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,934
2Re4-9	RE	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,963
2Re4-10	RE	++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,933
2Re4-11	RE	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,916
2Re4-13	RE	++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,92
2Re4-16	RE	+	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,951
2Re4-17	RE	+	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,747
2Re4-18	RE	+	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,927
2Re4-19	RE	+	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,943
2Re4-20	RE	+		<i>Pseudomonas putida</i>	0,938
2Re4-23	RE	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,912
2Re4-24	RE	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,931
2Re4-26	RE	+	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,937
2Re4-27	RE	++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,944
2Re4-28	RE	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,959
2Re4-30	RE	-	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,934
2Re4-31	RE	+	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,935
2Re4-32	RE	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,941
2Re4-33	RE	+	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,967
2Re4-35	RE	+	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,952
2Re4-36	RE	+	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,841
2Pe3-3	PE	+	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,364
2Pe4-1	PE	-	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,533
2Pe4-10	PE	-	++	<i>Bacillus pumilus</i>	0,598
Reife	EC 80				
3R1 - 11	R	+	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,96
3R1 - 19	R	+++	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,965
3R2 - 12	R	+++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,961
3R2 - 23	R	+	-	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>Nerium</i>	0,637
3R2 - 29	R	-	+++	<i>Bacillus cereus</i>	0,779
3R3 - 1	R	++	+	<i>no match</i>	
3R3 - 13	R	+	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,825
3R3 - 22	R	-	+	<i>Comamonas acidovorans</i>	0,314
3R3 - 27	R	+	+	<i>no match</i>	
3R4 - 17	R	++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,879
3R4 - 22	R	-	+	<i>Comamonas acidovorans</i>	0,274
3P3 - 4	P	-	+	<i>Pseudomonas marginalis</i>	0,914
3P3 - 16	P	-	+	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,554

Fortsetzung **Anhang II: Antagonistische Isolate 2001**

Probe	Habitat	V.d.	R.s.	Art	S-Index
Reife	EC 80				
3Re1 - 27	RE	-	+	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,897
3Re2 - 1	RE	+++	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,888
3Re2 - 6	RE	+++	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,952
3Re2 - 7	RE	+++	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,925
3Re2 - 9	RE	++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,653
3Re2 - 11	RE	+++	++	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,856
3Re2 - 12	RE	++	-	<i>Pseudomonas savastanoi</i>	0,753
3Re2 - 14	RE	++	-	<i>Pseudomonas savastanoi</i>	0,789
3Re2 - 20	RE	++	-	<i>Pseudomonas savastanoi</i>	0,797
3Re2 - 24	RE	++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,801
3Re2 - 26	RE	+++	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,953
3Re3 - 19	RE	+	-	<i>Erwinia amylovora</i>	0,62
3Re3 - 20	RE	-	+	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,872
3Re3 - 27	RE	+	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,776
3Re4 - 3	RE	+	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,742
3Re4 - 7	RE	+	+	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0,965
3Re4 - 18	RE	+++	+++	<i>Serratia grimesii</i>	0,74
3Re4 - 21	RE	+++	++	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,856
3Pe1-26	PE	-	+	<i>Pseudomonas mendocina</i>	0,912
3Pe2-14	PE	-	++	<i>Curtobacterium citreum</i>	0,596
3Pe2-24	PE	-	+	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	0,979
3Pe2-26	PE	-	+	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	0,838
3Pe2-28	PE	-	+	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	0,951
3Pe3-21	PE	-	+	no match	
3Pe4-2	PE	-	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,93
3Pe4-7	PE	-	+	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	0,894

R=Rhizosphäre, P=Phyllosphäre, RE= Endorhiza, PE=Endosphäre

Fortsetzung **Anhang II: Antagonistische Isolate 2002**

Übersicht über die Isolate mit antagonistischer Wirkung gegenüber *Verticillium dahliae* (V.d.) und *Rhizoctonia solani* (R.s.) *in vitro* **2002**

Probe	Habitat	V.d.	R.s.	Art	S-Index
Jugend	EC 20				
4R1-1	R	-	++	<i>Bacillus pumilus</i>	0,888
4R1-20	R	-	+	<i>Pseudomonas marginalis</i>	0,922
4R1-28	R	+++	+++		
4R2-10	R	-	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,92
4R2-17	R	-	+	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,918
4R3-8	R	-	+	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,923
4R3-13	R	+++	+++	<i>Citrobacter freundii</i>	0,484
4R3-16	R	-	+	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,888
4R3-17	R	+++	+		
4R3-29	R	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,946
4R4-11	R	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,9
4R4-17	R	++	+		
4P1-1	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,929
4P1-2	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,897
4P1-3	P	-	++	<i>Bacillus pumilus</i>	0,924
4P1-4	P	-	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,621
4P1-5	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,909
4P1-6	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,906
4P1-7	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,901
4P1-8	P	-	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,782
4P1-11	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,916
4P1-12	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,936
4P1-13	P	++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,678
4P1-14	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,835
4P1-15	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,899
4P1-17	P	-	++	<i>Bacillus pumilus</i>	0,917
4P1-18	P	++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,848
4P1-19	P	+	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,865
4P1-21	P	+++	+	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	0,589
4P1-25	P	-	++	<i>Bacillus pumilus</i>	0,883
4P1-26	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,922
4P1-27	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,903
4P1-28	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,916
4P1-29	P	-	++	<i>Bacillus pumilus</i>	0,896
4P2-3	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,937
4P2-4	P	++	++	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,88
4P2-5	P		+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,929
4P2-6	P	+++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,855
4P2-7	P		+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,935
4P2-8	P	++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,776
4P2-9	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,929
4P2-11	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,907
4P2-12	P	-	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,888
4P2-13	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,901
4P2-14	P	+++	++	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,888
4P2-15	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,9
4P2-16	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,878

Fortsetzung **Anhang II: Antagonistische Isolate 2002**

Probe	Habitat	V.d.	R.s.	Art	S-Index
Jugend	EC 20				
4P2-17	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,886
4P2-18	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,936
4P2-19	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,905
4P2-21	P	-	++	<i>Bacillus pumilus</i>	0,921
4P2-22	P	++	+++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,681
4P2-23	P	++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,669
4P2-24	P	+++	++	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,916
4P2-25	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,913
4P2-26	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,916
4P2-27	P	+++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,835
4P2-28	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,919
4P2-29	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,919
4P2-30	P	+++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,768
4P3-1	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,928
4P3-2	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,942
4P3-4	P	++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,867
4P3-5	P	+	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,938
4P3-6	P	+	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,924
4P3-7	P	+	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,716
4P3-8	P	++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,665
4P3-9	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,92
4P3-10	P	++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,648
4P3-11	P	++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,824
4P3-12	P	+	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,858
4P3-13	P	-	+	<i>Bacillus cereus</i>	0,643
4P3-14	P	++	+++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,866
4P3-15	P	++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,656
4P3-16	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,92
4P3-17	P	-	++	<i>Bacillus pumilus</i>	0,9
4P3-18	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,9
4P3-19	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,913
4P3-20	P	-	++	<i>Bacillus cereus</i>	0,633
4P3-21	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,914
4P3-22	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,843
4P3-23	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,869
4P3-24	P	-	++	<i>Bacillus cereus</i>	0,738
4P3-25	P	+	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,86
4P3-28	P	+	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,658
4P4-1	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,917
4P4-2	P	++	+	<i>Bacillus subtilis</i>	0,689
4P4-3	P	++	+	<i>Bacillus subtilis</i>	0,691
4P4-4	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,906
4P4-6	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,882
4P4-7	P	++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,692
4P4-8	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,915
4P4-9	P	++	++	kontaminiert	
4P4-10	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,917
4P4-16	P	-	++	<i>Bacillus pumilus</i>	0,929
4P4-17	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,909
4P4-22	P	++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,869

Fortsetzung **Anhang II: Antagonistische Isolate 2002**

Probe	Habitat	V.d.	R.s.	Art	S-Index
Blüte	EC 60				
4P4-26	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,915
4P4-27	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,843
4P4-29	P	-	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,867
4RE1-3	RE	-	-	<i>Bacillus pumilus</i>	0,937
4RE3-1	RE	-	++	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,555
4RE3-19	RE	++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,808
4RE3-24	RE	++	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,677
4RE4-4	RE	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,881
4PE1-3	PE	+++	++	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	0,743
5R1-7	R	+	-	<i>Streptomyces violaceusniger</i>	0,479
5R1-12	R	-	+	<i>Streptomyces halstedii</i>	0,028
5R1-19	R	-	++	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>	0,294
5R1-21	R	+	+++	<i>Pseudomonas corrugata</i>	0,685
5R1-22	R	-	+	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,695
5R1-27	R	+	-	<i>Streptomyces cyaneus</i>	0,155
5R2-4	R	+++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,944
5R2-17	R	-	+	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,88
5R2-27	R	+++	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,956
5R3-11	R	+++	+++	<i>Streptomyces rochei</i>	0,041
5R3-27	R	++	-		
5R4-6	R	-	+	<i>Streptomyces halstedii</i>	0,028
5R4-17	R	-	+	<i>Streptomyces griseoflavus</i>	0,245
5R4-18	R	++	+++	<i>Pseudomonas corrugata</i>	0,825
5R4-20	R	-	+++	<i>Pseudomonas marginalis</i>	0,862
5R5-5	R	+	-	<i>Streptomyces halstedii</i>	0,628
5R5-8	R	+	-	no match	
5P1-7	P	-	++	<i>Bacillus pumilus</i>	0,675
5P1-8	P	+++	+++	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	0,822
5P1-14	P	-	+	<i>Bacillus pumilus</i>	0,741
5P2-1	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,889
5P2-2	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,834
5P2-3	P	-	+	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,898
5P2-4	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,836
5P2-5	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,839
5P2-6	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,861
5P2-8	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,811
5P2-9	P	-	+++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,766
5P2-10	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,873
5P2-11	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,876
5P2-12	P	-	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,801
5P2-13	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,78
5P2-14	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,811
5P2-15	P	-	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,645
5P2-16	P	-	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,721
5P2-17	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,833
5P2-18	P	-	+	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,937
5P2-19	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,833
5P2-20	P	-	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,771
5P2-21	P	-	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,788
5P2-22	P	-	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,727

Fortsetzung **Angang II.** Antagonistische Isolate **2002**

Probe	Habitat	V.d.	R.s.	Art	S-Index
Blüte	EC 60				
5P2-23	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,823
5P2-24	P	-	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,773
5P2-25	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,817
5P2-26	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,889
5P2-27	P	-	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,865
5P2-28	P	-	+++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,785
5P2-29	P	-	+++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,772
5P2-30	P	-	+++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,933
5P3-2	P	-	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,801
5Re1-25	RE	+++	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,946
5Re2-6	RE	+++	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,93
5Re2-7	RE	+++	++	<i>Pseudomonas savastanoi pv. fraxinus</i>	0,939
5Re2-10	RE	+++	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,925
5Re2-17	RE	+++	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,968
5Re2-21	RE	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,963
5Re2-24	RE	++	-	<i>Pseudomonas syringae</i>	0,947
5Re2-27	RE	+++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,958
5Re2-28	RE	+++	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,919
5Re4-1	RE	+	++	<i>Pseudomonas corrugata</i>	0,795
5Re4-2	RE	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,97
5Re4-3	RE	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,962
5Re4-4	RE	+	+	<i>Pseudomonas savastanoi pv. fraxinus</i>	0,886
5Re4-6	RE	+	++	<i>Pseudomonas corrugata</i>	0,816
5Re4-7	RE	+	++	<i>Pseudomonas syringae</i>	0,74
5Re4-12	RE	++	++	<i>Pseudomonas corrugata</i>	0,737
5Re4-13	RE	++	++	<i>Pseudomonas corrugata</i>	0,708
5Re4-15	RE	+	++	<i>Pseudomonas corrugata</i>	0,805
5Re4-16	RE	-	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,795
5Re4-18	RE	++	++	<i>Pseudomonas corrugata</i>	0,82
5Re4-19	RE	++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,966
5Re4-21	RE	++	++	<i>Pseudomonas corrugata</i>	0,768
5Re4-23	RE	+++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,907
5Re4-27	RE	++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,908
5Re5-12	RE	+	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,876
5Pe4-14	PE	-	++	<i>Bacillus subtilis</i>	0,844
Reife	EC 80				
6R1-2	R	+	-		
6R1-4	R	+	-	<i>Streptomyces lavendulae</i>	0,303
6R1-13	R	+	-	<i>Streptomyces halstedii</i>	0,084
6R1-21	R	-	++	<i>Bacillus pumilus</i>	0,879
6R2-2	R	-	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,591
6R2-3	R	-	++	<i>Pseudomonas savastanoi pv. Fraxinus</i>	0,765
6R2-7	R	+	-	<i>Streptomyces violaceusniger</i>	0,119
6R2-11	R	-	+	<i>Streptomyces violaceusniger</i>	0,028
6R2-17	R	-	++	<i>Pseudomonas savastanoi pv. Fraxinus</i>	0,918
6R2-30	R	-	++	<i>Bacillus pumilus</i>	0,888
6R3-3	R	-	+	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,735
6R3-15	R	-	+	<i>Streptomyces halstedii</i>	0,043
6R4-8	R	+	-	<i>Streptomyces cyaneus</i>	0,232
6R4-10	R	++	++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,863



Fortsetzung **Anhang II: Antagonistische Isolate 2002**

Probe	Habitat	V.d.	R.s.	Art	S-Index
Reife	EC 80				
6R4-28	R	++	+++	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0,898
6R5-2	R	+++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,961
6R5-4	R	+++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,934
6R5-9	R	-	++	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,946
6R5-19	R	+++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,943
6R5-24	R	+++	++	<i>Pseudomonas putida</i>	0,872
6R5-29	R	-	+	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,856
6R5-30	R	-	+	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,962
6Re2-4	RE	+++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,897
6Re2-5	RE	++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,954
6Re2-8	RE	+	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,942
6Re2-11	RE	++	-	<i>Pseudomonas savastanoi pv. Fraxinus</i>	0,891
6Re2-14	RE	++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,958
6Re2-16	RE	++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,954
6Re2-17	RE	+++	-	<i>Pseudomonas savastanoi pv. Fraxinus</i>	0,919
6Re2-20	RE	+++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,939
6Re2-22	RE	+++	+	<i>Pseudomonas putida</i>	0,737
6Re2-25	RE	+	-	<i>Enterobacter taylorae</i>	0,912
6Re2-28	RE	++	-	<i>Pseudomonas savastanoi pv. Fraxinus</i>	0,82
6Re3-9	RE	+++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,944
6Re3-21	RE	++	-		
6Re3-23	RE	+++	-		
6Re4-2	RE	+++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,955
6Re4-11	RE	+++	-	<i>Pseudomonas syringae</i>	0,88
6Re4-17	RE	++	-	<i>Pseudomonas syringae</i>	0,82
6Re4-20	RE	+++	-	<i>Pseudomonas savastanoi pv. Fraxinus</i>	0,942
6Re4-21	RE	+++	-	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,878
6Re4-27	RE	+++	-	<i>Pseudomonas putida</i>	0,952

Habitate: R=Rhizosphäre, P=Phyllosphäre, RE= Endorhiza, PE=Endosphäre

## **DANKSAGUNG**

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Richard A. Sikora für die Bereitstellung des Themas und die Unterstützung bei der Anfertigung der vorliegenden Arbeit. Seine stete Diskussionsbereitschaft, kreativen Anregungen und die motivierenden Diskussionen haben maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Bei Prof. Dr. H. Goldbach möchte ich mich recht herzlich für die Übernahme des Korreferates bedanken.

Ein ganz besonderer Dank geht an Dr. Johannes Hallmann für die vielen anregenden Diskussionen, Hinweise und Tipps und für die kritische und ausdauernde Durchsicht des Manuskriptes.

Dr. Gabriele Berg und Annette Krechel danke ich für die Kooperation, die hilfreichen Diskussionen und die gute Zusammenarbeit während des gemeinsamen Projektes.

Gabi Deppe, Dr. Volker Gutberlet, Dr. Kerstin Lienemann und Katina Peters danke ich für die Unterstützung bei der Korrektur der Arbeit.

Allen jetzigen und ehemaligen Mitarbeitern des Institutes für Pflanzenkrankheiten danke ich für die kollegiale Atmosphäre, die Unterstützung, Hilfsbereitschaft und Motivation. Die Institutsfeste und vor allem die vielen spontanen Zusammenkünfte im Institutsgarten werden mir lange in Erinnerung bleiben.

Ein ganz dickes Dankeschön gilt meiner Familie und meinen Freunden für ihre Unterstützung und ihr Verständnis außerhalb des Laboralltags.

Für die zweijährige finanzielle Unterstützung danke ich der Deutschen Forschungsgemeinschaft.